



UNIVERSIDAD
DE LA REPUBLICA
URUGUAY



Alteraciones en la fagocitosis y su correlación clínica

Br. Santiago Dardanelli

Br. Elisa Giovanoni

Br. Sofía Rostán

Br. Sofía Sellanes

Docente orientador

Prof. Adj. Dra. María Noel Alvarez

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Udelar

Índice de contenidos

1. Resumen	2
2. Fundamentación	2
3. Introducción: Marco teórico del tema de investigación.....	3
Bases celulares y moleculares de la fagocitosis.....	3
3.1. Células fagocíticas profesionales	3
3.2. Llegada de los fagocitos al sitio de injuria: quimiotaxis	5
3.3. Oponización, reconocimiento e internalización	6
3.4. Maduración de la vacuola fagosomal	8
3.5. Mecanismos efectores en el fagosoma	9
3.5.1. Mecanismos oxidativos.....	9
3.5.2. Mecanismos no-oxidativos.....	11
4. Objetivo General del Trabajo	12
5. Objetivos específicos	12
6. Metodología	12
7. Alteraciones en el proceso fagocítico	13
7.1. Fallas intrínsecas	13
7.1.1. Disminución del número de células fagocíticas: neutropenia congénita severa (NCS).....	13
7.1.2. Alteración en la quimiotaxis y oponización: síndrome de hiperinmunoglobulina E (HIES)	15
7.1.3. Alteración en la transmigración, adhesión y endocitosis: déficit de adhesión leucocitaria (LAD).....	16
7.1.4. Déficit en mecanismos efectores intrafagosomales: enfermedad Granulomatosa Crónica (EGC)	17
7.2. Fallas extrínsecas: estrategias de evasión de microorganismos patógenos.....	20
7.2.1. Tuberculosis	21
Referencias bibliográficas	23

Resumen

El proceso de fagocitosis consiste en el reconocimiento, internalización y la degradación que prepara para la presentación de antígenos. Se describen brevemente estas etapas, haciendo especial hincapié en los aspectos moleculares vinculados a las alteraciones del proceso que se han identificado en patologías humanas.

Se realizó una monografía de revisión, seleccionando aquellas revisiones sistemáticas, metanálisis, ensayos clínicos y trabajos científicos publicados en revistas arbitradas.

Se analizaron las bases moleculares de las deficiencias en la fagocitosis, identificando patologías congénitas por alteraciones endógenas del proceso y mecanismos de evasión de patógenos que afectan la fagocitosis.

Estos trastornos se clasificaron en fallas intrínsecas y extrínsecas, las primeras se tratan de inmunodeficiencias congénitas: neutropenia congénita severa, neutropenia cíclica, síndrome de hiper IgE, déficit de proteínas de adhesión leucocitaria y enfermedad granulomatosa crónica; las segundas son fallas provocadas por un patógeno capaz de evadir o afectar la funcionalidad del mecanismo fagocítico. Debido a la importancia tanto clínica como epidemiológica de la tuberculosis, analizamos el mecanismo por el cual *Mycobacterium tuberculosis* logra evitar que el fagosoma se transforme en un ambiente degradativo y pueda sobrevivir en ese compartimento

Fundamentación

La inmunidad innata representa la primera línea de defensa contra las infecciones, reconociendo y respondiendo a patógenos en forma genérica. Está compuesta por sistemas que funcionan de manera permanente y otros que se encuentran inactivos en condiciones basales, y que se activan ante la presencia de patógenos. Entre los primeros se encuentran la piel y epitelios de revestimiento del tubo digestivo y vías respiratorias, entre otros. Dentro de los componentes inactivos se encuentran las células fagocíticas (dentro de los que se destacan neutrófilos, monocitos, macrófagos y células dendríticas) y el sistema del complemento.

La fagocitosis, definida como la ingestión de partículas de gran tamaño ($\geq 0.5 \mu\text{m}$), se trata de un proceso complejo que implica desde el reconocimiento y la

unión de las partículas por receptores específicos en la superficie celular, hasta el procesamiento del microorganismo para la presentación de antígenos y secreción de citoquinas, que conectan esta primera barrera con la respuesta adaptativa del sistema inmune (1–4).

Alteraciones en este proceso, tanto fallas intrínsecas por déficit en alguno de los pasos, como la existencia de patógenos capaces de evadirlo, ya sea inhibiéndolo o defendiéndose en forma efectiva de los mecanismos efectores que conforman la fagocitosis, explican la aparición de infecciones. Por este motivo es importante conocer en profundidad este proceso, sus bases moleculares, su correlación clínica patológica y los posibles blancos terapéuticos.

En este trabajo realizamos una revisión sistemática de las bases moleculares de la fagocitosis, sus mecanismos y de las alteraciones que afectan la eficiencia del proceso. Describimos las etapas haciendo énfasis en las alteraciones que pueden ser causa de distintas patologías.

Considerando que es difícil encontrar en la bibliografía material que englobe de manera concreta esta temática, nos planteamos elaborar una monografía de revisión que resulte de utilidad para los médicos generales y especialistas, a la hora de informarse sobre el tema y conocer la patogenia de las enfermedades relacionadas con defectos en la fagocitosis o evasión de la misma.

Introducción: Marco teórico del tema de investigación

Bases celulares y moleculares de la fagocitosis

Células fagocíticas profesionales

Las células fagocíticas profesionales son aquellas que presentan receptores específicos en la membrana, que les permiten reconocer una serie de microorganismos e internalizarlos. Estas forman parte de las células de la línea blanca o leucocitos, conocidos en forma genérica como la línea mieloide que incluye distintos tipos celulares: monocitos, neutrófilos, macrófagos y células dendríticas. Los fagocitos profesionales cumplen un rol crucial tanto en la defensa contra infecciones, como en la remoción de células propias envejecidas o muertas (2).

Estos tipos celulares se originan en la médula ósea y derivan todas de un progenitor mieloide común que genera el mieloblasto (precursor del neutrófilo) y el monoblasto (precursor de monocito, macrófago y células dendríticas), ver figura 1.

El **mieloblasto** atraviesa distintas etapas de maduración: promielocito, mielocito, metamielocito y polimorfonuclear juvenil, hasta dar lugar al polimorfonuclear maduro, en un proceso que tarda aproximadamente 15 días. La mayor parte de estas células maduras mueren en la médula ósea por apoptosis, el resto, logra alcanzar la circulación donde sobreviven de seis a diez horas antes de ser captadas por el sistema retículo endotelial,

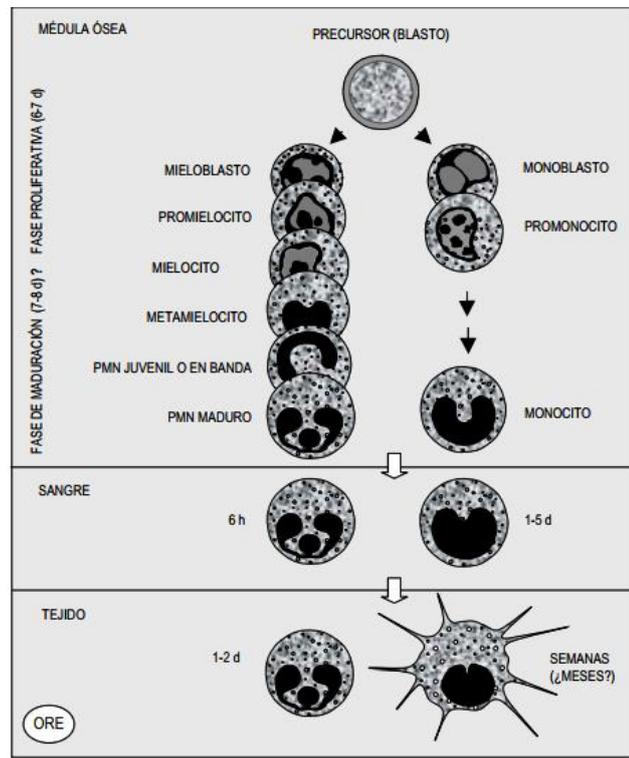


Figura 1: Extraído de (1)

donde luego de uno a dos días son finalmente eliminadas. Su rol no se limita al proceso de fagocitosis, también actúa como célula presentadora de antígenos y como secretora de citoquinas y péptidos antimicrobianos, de importancia en el proceso inflamatorio.

Los **monoblastos** se convierten en promonocitos en tres a cinco días y luego en monocitos que pasan a la circulación. Los monocitos logran la maduración completa en los tejidos en los que se albergan donde sobreviven varias semanas como macrófagos y como dendríticas, las células maduras. Estos reciben distintos nombres según donde se localicen, por ejemplo célula de Langerhans en la piel, de Kupffer en el hígado y microglía en el tejido nervioso. El proceso de fagocitosis consiste en el reconocimiento, internalización y la degradación que prepara para la presentación de antígenos. Se describen brevemente estas etapas, haciendo especial hincapié en los aspectos moleculares vinculados a las alteraciones del proceso que se han identificados en patologías humanas (1-4).

Llegada de los fagocitos al sitio de injuria: quimiotaxis

El reconocimiento del agente “extraño” comienza con un fenómeno de acumulación de células del sistema inmune en el sitio donde se produce la injuria. Esta acumulación es posible debido a que se liberan sustancias endógenas como citoquinas y quimioquinas, y sustancias exógenas provenientes del patógeno que actúan como quimioattractantes de las células fagocíticas; estas deben llegar al sitio de injuria abandonando los vasos sanguíneos, en el proceso que se denomina quimiotaxis.

Los quimioattractantes actúan sobre receptores específicos a nivel de la membrana del fagocito, desencadenando cambios a nivel de la estructura del citoesqueleto del mismo, a través de ciclos de polimerización y despolimerización de la actina, dando lugar a la migración fagocítica, en un proceso activo que requiere de ATP, así como de calcio y magnesio (4,5).

Como parte de la respuesta local, en la etapa inicial se produce un enlentecimiento del flujo sanguíneo, favoreciendo la acumulación local de los leucocitos, y su desplazamiento por rodamiento, marginación, adhesión y transmigración a través del endotelio hacia el sitio de injuria.

En respuesta a la producción de factor de necrosis tumoral (TNF α), de interleuquina 1 (IL-1) y productos microbianos, se produce la activación del endotelio con el consiguiente aumento en la expresión de las selectinas E y P. Los leucocitos, particularmente los neutrófilos, expresan en su superficie selectina L que interviene en la adhesión al endotelio previamente activado.

El rodamiento de los leucocitos se produce como consecuencia de uniones débiles, entre las selectinas E y P expresadas en el endotelio vascular, y sus ligandos glucídicos y selectina L, expresadas en los leucocitos, de manera que se produce una unión de baja afinidad, que se separa rápidamente, rodando de esta manera a lo largo del endotelio.

Las citoquinas presentes en la zona actúan sobre los macrófagos y células endoteliales, que a su vez secretan nuevas citoquinas y quimioquinas que aumentan la expresión de integrinas de alta afinidad, a nivel endotelial ICAM-1 y VCAM-1, y a nivel de la membrana leucocitaria, LFA-1, MAC-1, VLA-4 y LPAM-1, aumentando la intensidad de la unión entre leucocitos y endotelio.

Posteriormente se produce la transmigración del leucocito a través de las uniones intercelulares del endotelio, mediado por integrinas β 2, receptores de

quimioquinas CXCR1 y CXCR2, y la molécula de adhesión VCAM-1 expresada en el endotelio (1,3–6).

Existen tres tipos principales de moléculas de adhesión leucocitaria, mencionadas previamente: las integrinas $\beta 2$, las moléculas de adhesión relacionadas con las inmunoglobulinas ICAM1, ICAM2 y VCAM1, y la familia de las selectinas, P, E y L. Con el uso de anticuerpos monoclonales se descubrió que las integrinas $\beta 2$ se encuentran conformadas por una cadena α variable en los diferentes miembros de la familia, que se denominó CD11, y una cadena β conservada, es decir idéntica en todos ellos. Esto explica que una mutación en el gen de la cadena β , comprometa la funcionalidad de todas las integrinas $\beta 2$, además se ha sugerido que es necesaria la indemnidad de la cadena β para la correcta síntesis o expresión de la cadena α ; esto es de relevancia en la patogenia de las deficiencias de proteínas de adhesión leucocitaria (LAD) (4,5).

Opsonización, reconocimiento e internalización

El paso inicial de la fagocitosis es el reconocimiento del patógeno por la célula fagocítica. Esto es posible por la presencia en la superficie de los fagocitos de receptores que reconocen patógenos específicamente.

El grupo de receptores más estudiado son los de “tipo Toll” (TLR, de toll like receptors), que participan en el reconocimiento de estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMPS, de pathogen-associated molecular patterns). Son receptores transmembrana de tipo 1 que deben su nombre a que presentan homología con la proteína Toll de *Drosophila* y el receptor de la IL1. En la actualidad se conocen 11 TLR en humanos. Presentan un amplio espectro de ligandos, incluyendo patrones moleculares presentes en bacterias, hongos, levaduras y parásitos. El más característico de estos patrones es el lipopolisacárido (LPS) que se encuentra en la membrana bacteriana; otros patrones incluyen la flagelina, peptidoglicanos y formas alternativas de DNA características de los virus (5,7–9).

Otros receptores para constituyentes propios de los microorganismos incluyen el receptor para manosa (MR) y el de mananos e integrinas (Dec 205).

Otros tipos de receptores que participan en la fagocitosis son aquellos que reconocen proteínas del hospedero que se encuentran recubriendo a los patógenos.

Estas proteínas son denominadas opsoninas, e incluyen anticuerpos, fundamentalmente IgG, proteínas del complemento como C3b, C3bi y C4b, y lectinas, entre otros.

Cuando un patógeno es cubierto por opsoninas se conoce al proceso como opsonización. Los receptores de opsoninas incluyen a los receptores para la proteína fijadora de manosa (MBPR), receptores para la proteína surfactante A (SPR2), receptores para el sector Fc de las inmunoglobulinas IgG (FcR) y los receptores para moléculas del sistema del complemento C3b (CR1) y C3bi (CR3). De todos los mencionados, los receptores más conocidos son los FcR, con sus dominios citoplasmáticos asociados a regiones ITAM, necesarias para la fosforilación de tirosinas y la transducción de señales. Los receptores revestidos por clatrina, ubicados en zonas de la membrana plasmática, permiten que se invagine la membrana para rodear al material extracelular, y así formar la vacuola fagocítica.

Esta vacuola, durante el proceso de maduración, se fusionará con diversas vesículas, en particular con los lisosomas para formar el fagosoma maduro o vacuola fagolisosomal, en donde a través de mecanismos efectores varios, que se separan en mecanismos oxidativos y mecanismos no oxidativos, destruirá dicha partícula o patógeno.

Durante la endocitosis en el fagocito se desencadenan cascadas de señalización, en particular fosforilaciones con la activación de diversas proteínas, que a través de las pequeñas GTPasas RAC o RAS, promueven diversos cambios. Esos efectos incluyen activación transcripcional, rearrreglos en el citoesqueleto como la polimerización de la actina y liberación de mediadores inflamatorios, pasos necesarios para llevar a cabo el proceso.

Además de los receptores ya mencionados, también pueden participar de la internalización del patógeno, complejos macromoleculares como los rafts y cavéolas. Los rafts, presentes en la membrana plasmática y endosomal de las células eucariotas, son microdominios lipídicos que poseen abundante colesterol y glucolípidos con fosfatidil inositol, mediante el cual se enlazan a las membranas celulares. Las cavéolas son un tipo especializado de estos rafts, que se caracterizan por la presencia de oligómeros de la proteína caveolina. Estos complejos son responsables de algunos mecanismos endocíticos diferentes de la fagocitosis.

La vesícula formada se denomina caveosoma y no tiene ninguno de los marcadores endosomales que se encuentran en las otras vacuolas. Bacterias como *Mycobacterium Bovis* y *Escherichia Coli*, así como virus como *Sarampion* e *Influenza* son algunos de los microorganismos que penetran en las células por éstos mecanismos, ver figura 2 (4,5,10,11).

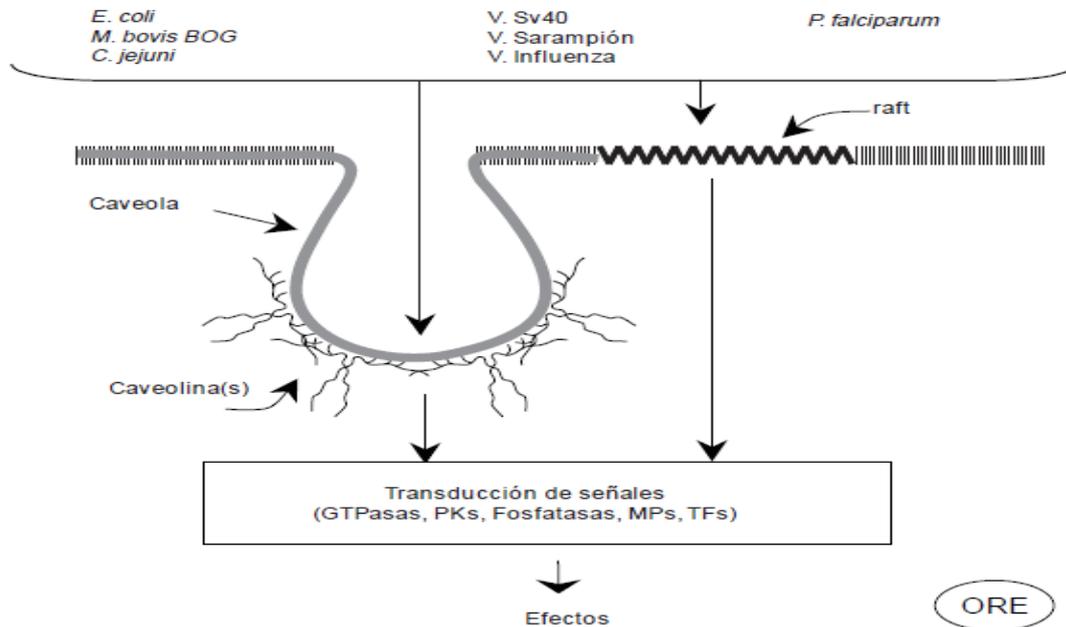


Figura 2: Internalización de microorganismos por las células fagocíticas. Extraído de (5).

Maduración de la vacuola fagosomal

La maduración fagosomal es el proceso por el cual la partícula fagocitada es transportada en una vacuola que se va transformando en un compartimento cada vez más “degradativo”. La caracterización del proteosoma fagosomal ha llevado a la identificación de una serie de proteínas que participan de la regulación del proceso de maduración.

Durante la endocitosis mediada por receptor, este se internaliza, hundiéndose en la célula en una vesícula recubierta por clatrina. Luego que la vesícula se escinde de la membrana mediada por dinamina, la clatrina es removida y los receptores pasan a un endosoma de reciclado, desde donde pueden llegar a reincorporarse a la membrana plasmática.

Algunas proteínas involucradas en el proceso de maduración del fagosoma son las anexinas que actúan como nexo entre la membrana y el citoesqueleto y las pequeñas GTPasas. Las vesículas adquieren la proteína Rab5, integrante del

grupo de las pequeñas GTPasas, que es activada por una proteína de intercambio de nucleótidos (GEFs), permitiendo que la vesícula se fusione con otras estructuras ricas en Rab5 y/o ricas en Rab4. Este mecanismo de dimerización es la base de la fusión de las vesículas que ocurre durante la maduración. Más adelante, desaparece Rab5 (marcador de fagosoma temprano) y aparece Rab7 (marcador de fagosoma tardío). La aparición de Rab7 resulta en el reclutamiento del efector de Rab7, llamado RILP y finalmente la fusión con los lisosomas con la consiguiente acidificación y adquisición de los marcadores lisosomales LAMP-1 y LAMP-2.

Esa vesícula madura, última en el proceso, es la que se denomina fagolisosoma.

Estas fusiones y fisiones van haciendo que la vacuola que contiene al microorganismo cambie no solo su composición de membrana, sino también sus contenidos en la luz de la vacuola: característicamente los endosomas tempranos contienen catepsina H, y los tardíos catepsina S.

A medida que la maduración progresa, los fagosomas migran sobre los microtúbulos, esto se encuentra regulado por proteínas como, la dyneina, dynactina y kinesina. El proceso completo dura aproximadamente treinta minutos, pudiendo variar según la partícula ingerida (4,5,10,11).

Mecanismos efectores en el fagosoma

Mecanismos oxidativos

Cuando el proceso de fagocitosis comienza, se activa también el evento denominado “estallido respiratorio”, que consiste en un gran aumento en el consumo de oxígeno no inhibible por cianuro, es decir independiente de la cadena respiratoria mitocondrial. Este proceso depende de la activación de la isoforma 2 de la NADPH oxidasa (NOX2), una enzima de membrana plasmática que cataliza la producción del radical libre superóxido ($O_2^{\cdot-}$) por la reducción univalente del O_2 usando el NADPH como dador de electrones (ecuación):



La NOX2 de células fagocíticas se encuentra quiescente en la célula en estado basal; en respuesta a partículas fagocitables se produce su activación que

depende de la fosforilación y migración de proteínas citosólicas (p67, p47 y p40) reguladoras que se ensamblan con la subunidad de membrana (gp91phox), ver figura 3 (11).

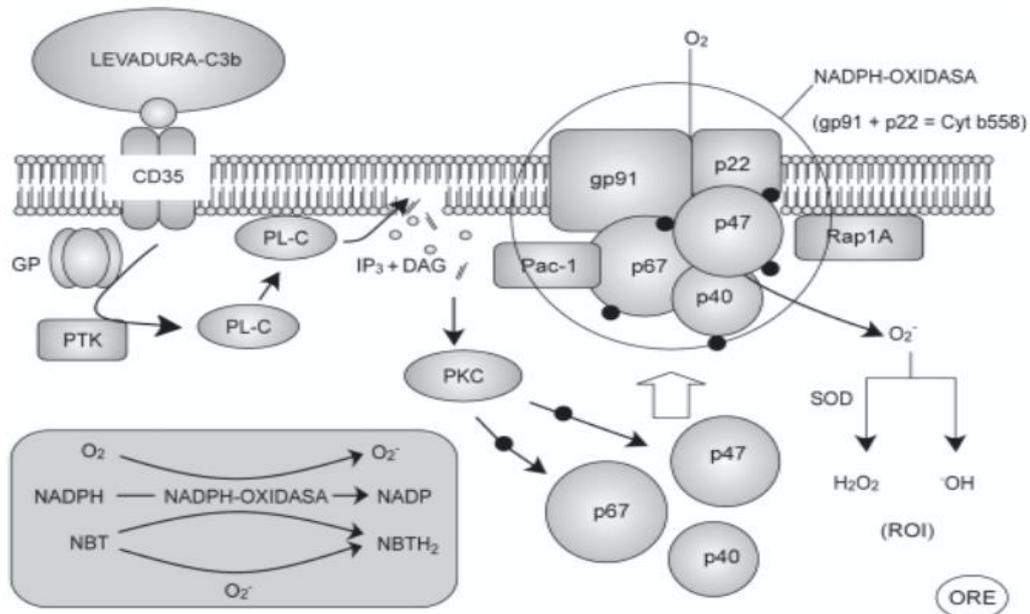


Figura 3: Activación del sistema NADPH oxidasa. Extraído de (11)

Durante el estallido respiratorio también se puede evidenciar un alto consumo de glucosa, por la vía de las Pentosas Fosfato, responsable de producir el NADPH.

Durante el proceso fagocítico, la enzima es internalizada en la vacuola de cara al interior de la misma, es decir que el O₂⁻ se forma en el interior de la vacuola. La producción de superóxido como mecanismo efector de la respuesta inmune no se debe a una acción directa de este radical sino a la formación de las especies derivadas; el H₂O₂ formado por dismutación, que puede actuar directamente o como sustrato de la mieloperoxidasa (MPO) en neutrófilos, para formar otras especies oxidantes como el hipoclorito (HOCl). La producción de HOCl alcanza concentraciones dentro del fagosoma de un neutrófilo suficientes para matar una bacteria, sin embargo los individuos que presentan una deficiencia en mieloperoxidasa son menos susceptibles a infecciones que los deficientes en NOX2 (11).

El O₂⁻ además puede reaccionar con otro radical libre, el óxido nítrico (*NO) formado por la enzima inducible óxido nítrico sintasa (iNOS). El producto de esa reacción es otra especie fuertemente oxidante, con alta capacidad

microbicida, el peroxinitrito (11). De la correcta acción conjunta de los radicales libres del oxígeno y del nitrógeno, así como de sus derivados (anión superóxido, radical hidroxilo, peróxido de hidrógeno, hipoclorito y peroxinitrito) y de los péptidos y proteínas microbicidas de los gránulos lisosomales, dependerá la muerte de los microorganismos fagocitados.

La evasión de estos efectores puede ser lograda por los microorganismos patógenos en forma de diversas estrategias; el aumento de las defensas antioxidantes ha sido detectado en algunos agentes patógenos como responsable de la virulencia de algunas especies. Existen también bacterias y parásitos que cuando son fagocitados impiden el ensamblado de la NOX2, lo que desarma todo el sistema oxidativo, ya que la formación del superóxido es necesaria para producir la batería de oxidantes ya nombrados. La importancia de la integridad del “estallido respiratorio” se evidencia en situaciones clínicas asociadas a la ausencia o deficiencia de NOX2 por mutaciones en algunas de sus subunidades (enfermedad granulomatosa crónica), y déficit de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, responsable del paso inicial de la vía de las pentosas fosfato (4,10,11).

Mecanismos no-oxidativos

Uno de los mecanismos microbicidas más conocido del fagosoma, es el descenso del pH intravacuolar hasta pH 5.5-6.0, que si bien no llega a ser tan ácido como para matar a los microorganismos, su efecto microbicida está relacionado con la activación de las enzimas hidrolíticas, ya que su pH óptimo es ácido. Estas enzimas incluyen lipasas, proteasas, nucleasas y glucosidasas lo que permite la degradación de todas las biomoléculas.

En la acidificación del fagosoma está implicado un sistema enzimático, ubicado en la membrana lisosomal, que funciona como bomba de protones, el sistema protón ATPasa. El mismo se incorpora al fagosoma al ocurrir la fusión fagolisosomal, junto con las enzimas hidrolíticas lisosomales, ver figura 4.

La importancia de éstos mecanismos no oxidativos, se deduce en casos clínicos en dónde estos componentes fallan. Por ejemplo el déficit en alguna de las enzimas hidrolíticas, forma parte de las patologías conocidas como enfermedades lisosomales. También es interesante comentar que el mecanismo por el cual *Mycobacterium tuberculosis* sobrevive en el fagosoma

del fagocito es porque logra evitar la maduración de esta vacuola y en particular la fusión con los lisosomas, evitando de esta manera el efecto de los mecanismos no oxidativos. (4,10,11)

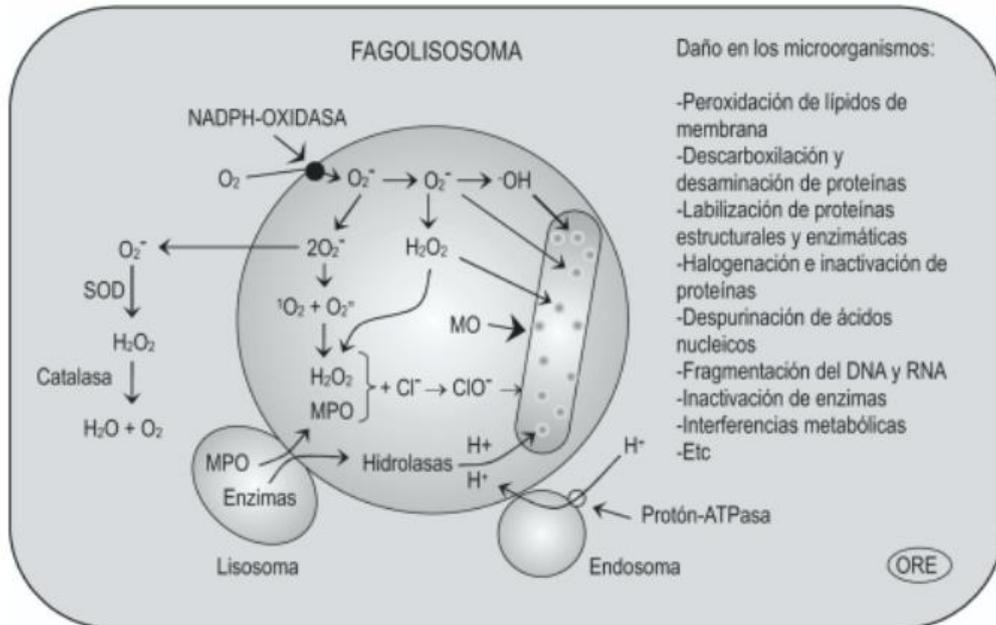


Figura 4: Muerte de los microorganismos por el fagolisosoma (Mecanismos oxidativos y no oxidativos). Extraído de (3).

Objetivo General del Trabajo

Analizar las bases moleculares de las deficiencias en la fagocitosis.

Objetivos específicos

Conocer las bases moleculares del proceso de fagocitosis en condiciones fisiológicas.

Identificar patologías congénitas que se desarrollan debido a defectos en el proceso de fagocitosis y comprender su patogenia.

Analizar los mecanismos de evasión de patógenos que afectan el mecanismo de fagocitosis.

Metodología

Se realizó una monografía de revisión. Los estudios que se utilizaron fueron producto de una búsqueda bibliográfica en 5 bases de datos, siendo estas: Pubmed, Medline, Timbó, Scielo y Google Académico. Los términos de

búsqueda fueron: “fagocitosis”, “alteraciones”, “deficiencia”, “patología”, “enfermedades”, “clínica”, “y”, “o”, “phagocytosis”, “deficiency”, “and”, “or”, “illness”; el límite de búsqueda establecido inicialmente fue la fecha de publicación no anterior al año 2000. Como consecuencia de la búsqueda inicial surgió la necesidad de ampliar la misma utilizando términos adicionales, específicos para cada patología a investigar. Estos fueron: “enfermedad granulomatosa crónica”, “neutropenia congénita severa”, “neutropenia cíclica”, “síndrome de hiper IgE”, “déficit de adhesión leucocitaria”, “tuberculosis”. Se seleccionaron aquellas revisiones sistemáticas, metanálisis, ensayos clínicos y trabajos científicos publicados en revistas arbitradas.

Alteraciones en el proceso fagocítico

Se desarrollan a continuación los trastornos cuya patogenia deriva de un defecto en el proceso de fagocitosis. Se clasificaron en fallas intrínsecas y extrínsecas del proceso; las primeras se tratan de inmunodeficiencias congénitas: neutropenia congénita severa, neutropenia cíclica, síndrome de hiper IgE, déficit de proteínas de adhesión leucocitaria, y enfermedad granulomatosa crónica; las segundas son fallas provocadas por un patógeno capaz de evadir o afectar la funcionalidad del mecanismo fagocítico, se desarrolla por su importancia tanto clínica como epidemiológica la infección producida el bacilo de Koch.

Fallas intrínsecas

Disminución del número de células fagocíticas: neutropenia congénita severa (NCS)

Si bien las neutropenias no constituyen una alteración en el proceso de fagocitosis de cada célula, se encuentra afectada la fagocitosis de forma general por estar disminuido el recuento de neutrófilos y porque éstos son uno de los principales tipos celulares que la llevan a cabo.

La NCS forma parte del conjunto de inmunodeficiencias primarias, es decir déficits congénitos que implican un trastorno del sistema inmune. Es un trastorno autosómico dominante, donde el contenido absoluto de neutrófilos es menor a 0.5×10^9 /L. Se define como crónica cuando en los hemogramas realizados se observa la disminución por un mínimo de 3 meses, intermitente si

existen períodos de corrección espontáneos, cíclica si se manifiesta periódicamente cada tres o cuatro semanas, y central cuando disminuye la reserva medular de neutrófilos, observándose una reducción de los estadios tardíos de la maduración.

La variante cíclica (NC), a pesar de ser una enfermedad poco prevalente es el síndrome neutropénico más conocido. Se caracteriza por episodios recurrentes debidos a la oscilación en la producción de neutrófilos a nivel de la médula ósea, estas oscilaciones se dan aproximadamente cada tres o cuatro semanas, y los síntomas y signos clínicos duran entre tres y seis días.

Tanto la NCS como su variante la NC, se deben a mutaciones en el gen ELA2, que codifica para la elastasa neutrofílica, una serinproteasa que se encuentra en los gránulos azurófilos de neutrófilos. El mecanismo por el cual estas mutaciones llevan a una disminución en el número de neutrófilos aún es incierto. Una posibilidad es que la deficiencia en esta actividad genere un ambiente adverso en la médula ósea que limite la supervivencia o aumente la apoptosis de los precursores granulocíticos, llevando a una severa disminución de su producción y a un deterioro de las características proliferativas.

Sin embargo, estudios realizados con ratones modificados genéticamente, depletados de esta enzima, muestran que estos animales no presentan neutropenia. La pérdida de neutrófilos por un incremento en la apoptosis en los precursores, aparentemente depende de la respuesta a proteínas desplegadas, proceso que se desencadena cuando hay un gran aumento de proteínas mutadas y por lo tanto mal plegadas, lo que conduce a un stress en el retículo endoplásmico y la apoptosis.

La mutación de ELA2 da cuenta del 50% de las NCS, el resto se divide en otras mutaciones, como es el caso de una proteína mitocondrial (HAX1) cuya alteración también resulta en la apoptosis de los neutrófilos. En el caso de las neutropenias congénitas ligadas al X, la proteína afectada es WAS, vinculada a la polimerización de la actina, que lleva a una disminución de la proliferación celular. Desde el punto de vista clínico se caracteriza por la selectiva disminución de neutrófilos en sangre periférica, con la consecuente pérdida de la capacidad fagocítica total y genera infecciones recurrentes, en particular bacterianas y micóticas.

El tratamiento de la NCS consiste en la administración del factor estimulador de

colonia granulocítico (G-CSF - Granulocyte colony-stimulating factor), este factor promueve la maduración de las células precursoras de la médula ósea lo que genera en la mayoría de los casos un incremento absoluto de neutrófilos por encima de $3.70 \times 10^9/L$. El trasplante de progenitores hematopoyéticos es un tratamiento alternativo con resultados favorables en algunos pacientes (12–15).

Alteración en la quimiotaxis y opsonización: síndrome de hiperinmunoglobulina E (HIES)

El síndrome de hiper-IgE, también conocido como síndrome de Job, o síndrome de Buckley, es una inmunodeficiencia primaria sistémica poco frecuente, cuya incidencia es de 1 en 500.000 nacidos vivos, no existiendo aparentemente diferencias por sexo o grupo étnico.

Existen dos variantes genéticas que provocan este síndrome, una autosómica recesiva, y otra autosómica dominante con penetrancia variable. La autosómica recesiva se debe a una mutación en el gen *Tyk2* que codifica para una tirosin quinasa miembro de las quinasas Janus (JAKs). Estas proteínas se asocian con el dominio citosólico de los receptores de citoquinas, participando de las vías de señalización desencadenadas en respuesta a estas moléculas. La deficiencia en *Tyk2* tiene efectos en las funciones mediadas por varias citoquinas (IL-4, 10, 12, 23) e IFN de tipo I, con efectos importantes en la respuesta inflamatoria. La variante autosómica dominante recientemente se ha asociado a mutaciones en el gen del factor de transcripción STAT3. Esta proteína pertenece al grupo de factores de transcripción STAT vinculados a la respuesta a citoquinas. Los factores STAT se encuentran en el citosol, donde son fosforilados por quinasas, en respuesta a citoquinas se dimerizan y translocan al núcleo, activando la transcripción de algunos genes. Los factores STAT intervienen en la respuesta de los monocitos a la IL-6 y en el desarrollo y diferenciación de células B y Th17. Se ha propuesto que la mutación de STAT3 produciría una deficiencia en la producción de $INF\gamma$, y dado que este es un inhibidor de la producción de IgE, su deficiencia produciría un aumento de la misma. El $INF\gamma$ además cumple un rol relevante como activador de los neutrófilos y macrófagos, alterando de esta manera su actividad microbicida. Otros efectos incluyen la disminución del $TGF\beta$ y una reducción en la expresión de L-selectina en la superficie leucocitaria, que como ya ha sido mencionado,

es indispensable para la quimiotaxis, activación y adhesión leucocitaria al endotelio. Se ha identificado además una deficiencia de receptores para C3b en los neutrófilos, afectando por lo tanto la quimiotaxis y la opsonización. Estas alteraciones generan una desregulación del sistema inmune, con una respuesta inflamatoria retardada.

Desde el punto de vista clínico se caracteriza por una tríada clásica constituida por aumento de los niveles séricos de inmunoglobulina E, mayores a 2000 UI/ml, manifestaciones en piel como dermatitis atópica severa y abscesos fríos de inicio temprano e infecciones del tracto respiratorio inferior, entre las que se destacan las neumonías recurrentes, que de manera característica se resuelven con neumatoceles. Los casos de herencia autosómica dominante presentan alteraciones músculo-esqueléticas y los de herencia recesiva alteraciones neurológicas.

El estudio de los niveles séricos de inmunoglobulinas, indica niveles elevados de IgE, generalmente mayores a 2000 UI/ml, y es frecuente el hallazgo de eosinofilia periférica. Se recomienda el tratamiento profiláctico con penicilinas resistentes a penicilinasas con cobertura para S.Aureus, para reducir la incidencia de infecciones. El uso de inmunoglobulinas intravenosa disminuye los niveles de IgE, la dermatitis y las infecciones pulmonares (16–21).

Alteración en la transmigración, adhesión y endocitosis: déficit de adhesión leucocitaria (LAD)

El LAD es una patología poco frecuente, que genera un defecto en la inmunidad del hospedero con alteraciones en los procesos de motilidad, adhesión y endocitosis por parte de los leucocitos.

Se trata de una inmunodeficiencia primaria autosómica recesiva, con distintas presentaciones tanto desde el punto de vista molecular, genotipos, como clínicos, fenotipos. El LAD tipo 1 clásico, el más frecuente, tiene como base la expresión cuantitativa o cualitativamente deficiente de CD18 (subunidad β) de las integrinas β 2. Esta deficiencia puede deberse a una mutación en el gen que codifica para la cadena β de las integrinas β 2 en el cromosoma 21, que da como resultado la disminución de la transcripción o una transcripción aberrante. Se impide la formación de las integrinas β 2, heterodímeros formados por la subunidad CD18 y las subunidades α como la CD11a, CD11b o CD11c, y su

expresión en la superficie celular de leucocitos, de esta forma se hace inviable la adhesión en el proceso de quimiotaxis y la fagocitosis de partículas recubiertas por complemento.

Este déficit genera frecuentemente infecciones agudas, recurrentes, bacterianas y fúngicas de piel y mucosas, periodontitis y fístulas perianales e intestinales. En casos severos se puede observar onfalitis y sepsis.

El LAD 2 tiene como base un defecto en la actividad de la fucosiltransferasa o en enzimas involucradas en la síntesis de Gdp-fucosa, motivo por el cual no ocurre fucosilación. La enfermedad se debe a una ausencia de Sialil 1 Lewis X, ligando del carbohidrato en los neutrófilos, que se necesita para la unión a las selectinas E y P en el endotelio activado por citoquinas.

Clínicamente estos pacientes presentan retardo mental y detención del crecimiento, así como la presencia del grupo sanguíneo Bombay.

En LAD 2 el defecto principal radica en el rodamiento mientras que en LAD-1 existen defectos en la adhesión y transmigración.

En algunos casos esta patología provoca la muerte del paciente y el único tratamiento curativo es el trasplante alogénico de médula ósea (15,22–24).

Déficit en mecanismos efectores intrafagosomales: enfermedad Granulomatosa Crónica (EGC)

La EGC es una inmunodeficiencia primaria hereditaria, producida por una alteración en la actividad de la enzima responsable del estallido respiratorio, la NADPH oxidasa, y por consiguiente en la producción de especies reactivas del oxígeno. Esto conduce a una imposibilidad para matar determinado espectro de hongos y bacterias, principalmente *Staphylococcus* y gram negativos, determinando importante susceptibilidad a infecciones, en un contexto de hiperinflamación y formación de granulomas.

Comprende alteraciones genéticas que comprometen la funcionalidad de alguna subunidad de la NOX2 fagocítica, ya sea de las subunidades de membrana gp91phox y gp22phox, o las proteínas citosólicas reguladoras 47phox, 67phox y 40phox.

La incidencia de esta enfermedad es de aproximadamente 1 caso en 200.000 nacidos vivos. Hay dos formas principales de esta enfermedad, de herencia

recesiva ligada al X, producida por un déficit de la subunidad gp91phox constituyendo un 60-70% de los casos, y de herencia autosómica recesiva debida a déficits en gp22phox, gp47phox o gp67phox.

El complejo NADPH oxidasa determina la transferencia de electrones desde el NADPH hacia el oxígeno, generando anión superóxido, sustrato a su vez de otras enzimas o reacciones responsables de la formación de especies con mayor poder oxidante, y por tanto tóxicos para los patógenos internalizados como H₂O₂, HOCl y ONOO⁻. De esta manera se altera el mecanismo citotóxico dependiente de oxígeno.

Sin embargo se ha visto que se encuentran también alterados los mecanismos efectores independientes de oxígeno, debido a que la NOX2, indirectamente participa en la activación de proteasas. Recientemente se ha vinculado el “clearance” de neutrófilos activados e infectados, contribuyendo a la hiperinflamación y formación de granulomas.

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad pueden aparecer desde la etapa de lactante hasta la edad adulta, sin embargo, en el 95% de los casos aparecen antes de los 5 años de edad. En los casos con defectos ligados al cromosoma X, las manifestaciones clínicas suelen ser más tempranas, en promedio al año de vida. La forma autosómica recesiva es diagnosticada más tarde y tienen una esperanza de vida significativamente mayor que la forma ligada al X. Los pacientes con EGC presentan en su infancia o adolescencia, historias repetidas de infecciones bacterianas y/o fúngicas. La forma ligada al cromosoma X presenta más infecciones y más severas, que la forma autosómica recesiva, probablemente debido a que la subunidad gp91phox es donde ocurre la reacción.

Los hallazgos clínicos más frecuentes son linfadenopatía marcada, hepatoesplenomegalia y neumonías. También es frecuente la formación de granulomas, otros tipos de infecciones y repercusión nutricional.

Los gérmenes que caracterizan a esta enfermedad son piógenos catalasa positivos, los más frecuentes son *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella*, *Notocordia*, *Serratia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, enterobacterias y hongos, los más

frecuentes *Candida albicans* y *Aspergillus*, siendo el mayor responsable de la mortalidad de los pacientes con esta enfermedad.

Cabe destacar que las manifestaciones clínicas van a variar en tanto varíe el grado de afectación del sistema NOX2 y el terreno del paciente. Los pacientes con una mayor afectación del citocromo b558 (gp91 y p22) son los que muestran más complicaciones a edades tempranas y sufren más cantidad de infecciones y de mayor severidad. La falla en la producción de radical superóxido, lleva a una pérdida del efecto inmunomodulador y sería la causa de la exuberante respuesta inflamatoria de los pacientes.

Otro aspecto a destacar es la existencia del fenotipo de Kell, que sucede cuando hay otro tipo de delección en el brazo largo de cromosoma X, en él se asocian 3 enfermedades, EGC ligada al X, distrofia muscular de Duchenne y retinitis pigmentosa ligada al X.

Clínicamente la EGC se caracteriza por infecciones pulmonares y hepáticas severas, incluyendo la formación de abscesos y formación de lesiones granulomatosas en el tracto gastrointestinal y genitourinario.

Los hallazgos de laboratorio más frecuentes son anemia, hiperglobulinemia policlonal, reactantes de fase aguda elevados tales como el tiempo de sedimentación de eritrocitos y la proteína C reactiva y normalidad de los linfocitos T y B.

Con respecto a los test diagnósticos se cuenta con el uso de sondas como el nitro blue tetrazolium (NBT), capaz de reducirse por el anión superóxido y la dihidrorodamina (DHR) que fluoresce luego de ser oxidada por las especies derivadas del superóxido. La reducción del NBT, consiste en colocar una gota de sangre periférica en un portaobjetos, luego se agrega un éster de forbol (PMA) que activa la fosforilación de las subunidades citosólicas conduciendo al ensamblaje y activación de la enzima. La reducción de la sal soluble de color amarillo pálido genera que se forme rápidamente un producto insoluble de color azul, el formazán, lo que puede evidenciarse en el microscopio. Los fagocitos de un paciente con EGC no presentan la capacidad de reducir el NBT, evidenciándose en la ausencia del cambio de color. Hay que mencionar que pueden existir falsos negativos, ya que los casos en donde se afectan p22, p47

y p67 (subunidades citosólicas del sistema NADPH oxidasa) hay una producción basal de superóxido. La oxidación de DHR, es la técnica más utilizada en la actualidad, analizándose mediante citometría de flujo. Al activarse los fagocitos, oxidan la DHR a rodamina, un compuesto altamente fluorescente, permitiendo esto el conteo de células funcionales. Hay que tener en cuenta que los defectos en gp91 no poseen reducción de DHR, mientras que los defectos en p41 poseen escasa reducción. Una ventaja importante de esta técnica es que permite identificar a las portadoras de la enfermedad, ya que exhiben dos poblaciones de neutrófilos, unos que oxidan y otros que no oxidan la DHR. También se puede realizar inmunocitoquímica o citometría de flujo con anticuerpos, que permite detectar los niveles de expresión de las subunidades, y técnicas de biología molecular que incluyen la secuenciación de genes y análisis mutacional de subtipos.

El tratamiento consta de tres partes, la profilaxis de la infección, el manejo de la misma y el tratamiento definitivo, transplante de Stem Cells y terapia génica (25–32).

Fallas extrínsecas: estrategias de evasión de microorganismos patógenos

La existencia de infecciones implica que hay una falla en alguno de los componentes del sistema encargado de evitarlas. Este sistema evita que la mayor parte de los microorganismos generen una infección usando, entre otras, la fagocitosis como parte de los mecanismos efectores. Sin embargo, existen algunos microorganismos que han logrado derribar esas barreras, y en esta revisión comentaremos los casos de los patógenos que evitan o alteran el proceso de la fagocitosis como forma de evadir al sistema inmune. Por ejemplo, en la etapa de reconocimiento del patógeno, podemos identificar dos tipos de estrategias. Una consiste directamente en entrar a la célula por un mecanismo diferente del fagosoma y otra en evadir el reconocimiento por parte de la misma.

Un ejemplo de la primera es *Listeria monocytogenes*, esta bacteria utiliza para ingresar E-caderina y el receptor del factor de crecimiento hepatocítico (Met). Otras como *Yersinia*, *Shigella flexneri* y *Helicobacter pylori*, utilizan las integrinas $\beta 1$. Estos receptores median la endocitosis de estos patógenos, sin desencadenar los mecanismos efectores dentro de esa vesícula ni activar las

vías de señalización que conducen a una respuesta celular completa. *Chlamydia trachomatis*, promueve la entrada a la célula huésped, modificando la reorganización del citoesqueleto, en este caso induciendo la polimerización de actina.

La segunda estrategia está representada por ejemplo por *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus spp*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia* y *Criptococcus neoformans*, que evaden el reconocimiento por los receptores especializados TLR a través de la modificación de los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS).

Para evitar la opsonización, *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* secretan proteasas de inmunoglobulinas, clivándolas en la región bisagra e impidiendo de esta manera la opsonización del patógeno. Una vez internalizadas se han detectado una serie de efectos de los patógenos sobre la activación del fagocito, por ejemplo, *Yersinia*, *Salmonella* y *Neisseria gonorrhoeae* inhiben la fosforilación de tirosinas por las quinasas de las vías de señalización, que se disparan cuando se establece contacto con estas células. Es frecuente que un patógeno utilice más de un mecanismo para superar el sistema fagocítico.

La estrategia más interesante es la desarrollada por *Mycobacterium tuberculosis (MTb)*. Esta bacteria es fagocitada por los mecanismos convencionales, sin embargo es conocida por sobrevivir dentro del compartimento, evitando la maduración de la vacuola y por tanto su acidificación. Desarrollaremos en profundidad este ejemplo ya que el mecanismo exacto por el cual *MTb* logra detener el proceso no está del todo dilucidado y es un punto de controversia actual para la comunidad científica. Entender las bases moleculares del proceso permite diseñar una estrategia de tratamiento más efectiva que la actual, sobre todo teniendo en cuenta que el aumento de la prevalencia e incidencia de tuberculosis en el mundo pone la mirada en este patógeno (10,33–38).

Tuberculosis

La tuberculosis humana es una amenaza para la salud pública mundial ya que infecta a un tercio de la población y es responsable de aproximadamente dos

millones de muertes anuales.

Es producida fundamentalmente por *M.tuberculosis* que logra sobrevivir al ambiente hostil del fagosoma, quedando en el interior de la célula por un tiempo prolongado. Si bien existen tratamientos para esta enfermedad, las drogas actualmente disponibles son solo parcialmente efectivas.

Varios ensayos han intentado dilucidar el mecanismo por el cual lo logra. En términos generales se conoce que *M.tuberculosis* ingresa al macrófago por el proceso normal de fagocitosis pero una vez dentro de él logra detener el proceso de maduración del fagosoma, conservando las características de un endosoma temprano. La detención del proceso de maduración permite que el pH de la vacuola se mantenga cercano a 7 y se considera que esta es la principal causa de la evasión de la toxicidad, ver figura 5.

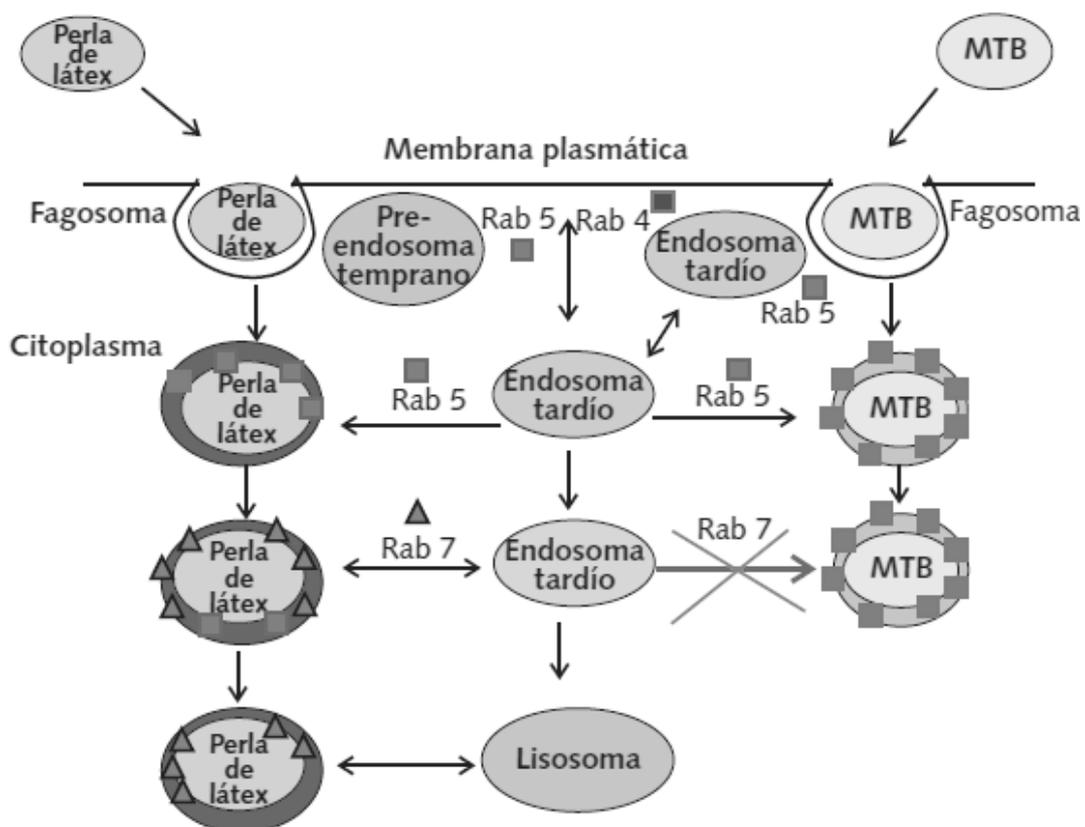


Figura 5: Detención del proceso de maduración del fagosoma por Mtb. Extraído de (40).

Células mutantes de *M.tuberculosis* incapaces de lograr la detención completa del proceso de maduración del fagosoma, se internalizan en compartimentos con pH más ácido y hacen imposible su replicación.

Las diferentes estrategias propuestas, responsables de inhibir la maduración del fagosoma, incluyen tanto moléculas del hospedero como del patógeno. Entre estas últimas se encuentran tanto lípidos de la pared celular como proteínas del bacilo. En particular, en los últimos años ha cobrado gran relevancia el estudio de una quinasa de *M. tuberculosis* denominada PknG, como una de las moléculas centrales en la inhibición de la maduración del fagosoma. Si bien no se sabe aún cuál es el blanco de su acción que provoque el efecto, se ha detectado que PknG es secretada al interior del fagosoma. Estudios con Micobacterias deficientes en esta quinasa (KO) muestran un fenotipo de virulencia atenuado y son rápidamente degradadas en fagosomas maduros. Además los ensayos de sobreexpresión de una mutante de PknG inactiva muestran que es incapaz de ejercer estos efectos por lo que se asume que la actividad quinasa de esta proteína es esencial para inhibir la fusión fagolisosomal. Como muchos de los factores involucrados en la regulación del tráfico intracelular están controlados por reacciones de fosforilación/desfosforilación, es posible que el mecanismo de acción de PknG sea a través de la fosforilación de un blanco en el macrófago vinculado a la maduración. Aún son desconocidos los mecanismos involucrados en cómo esta quinasa interfiere con la fusión del fagosoma con el lisosoma (39–42).

Referencias bibliográficas

1. Bertha Vega Robledo. Fagocitosis. Rev Fac Med UNAM Vol. 51 No. 6 Noviembre-Diciembre, 2008;51(6):261–3.
2. Arce Paredes. Fagocitosis : mecanismos y consecuencias Primera parte. Revista Bioquímica 2003;28:19–28.
3. Miguel Hernandez. Interleucinas e inmunidad innata. Revista Biomed 2001; 12(4):272–80.
4. Flannagan RS, Jaumouillé V, Grinstein S. The cell biology of phagocytosis. Annu Rev Pathol [Internet]. 2012 Jan [cited 2014 Jul 16];7:61–98.
5. Rojas Espinosa, Arce Paredes. Fagocitosis : mecanismos y consecuencias Segunda parte. Revista Bioquímica, 2004; vol. 29.
6. Rosa Castellanos Martinez. Respuestas inmunes innata y adaptativa. MEDISAN. 2000;4(2):64–74.

7. Carlos Alberto Cañas. Autoinmunidad y autoinflamación Autoimmunity and autoinflammation. *Acta Médica Colombiana*. 36 N° 2, 2011;(1).
8. M. Mesa Villanueva, Patiño PJ. Receptores tipo Toll : entre el reconocimiento de lo no propio infeccioso y las señales endógenas de peligro. 2006; 25:115–30.
9. Luis Montaña. Respuesta inmune, innata y adaptativa: ¿Son los TLRs el eslabón perdido?. *Revista Facultad de Medicina, UNAM*, 2008;51(2):60–2.
10. Sarantis H, Grinstein S. Subversion of phagocytosis for pathogen survival. *Cell Host Microbe* [Internet]. Elsevier Inc.; 2012 Oct 18 [cited 2014 Sep 1];12(4):419–31.
11. Arce Paredes. Fagocitosis : mecanismos y consecuencias Tercera parte. *Revista Bioquímica*, 2004;29. h
12. Wilmer Córdova Calderón. Caso clínico Neutropenia congénita grave. *Revista Alergia México* 2010;57(5):176–81.
13. Aramis Nuñez Quintana. Neutropenias congénitas. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 2004;(20)
14. Pedro Diz. Alteraciones cuantitativas y funcionales de los neutrófilos. *Medicina Oral* 2002;7(1):206–21.
15. Yanelkys L, Padrón C, Isabel L, Leyva T, Vianed D, Suárez M, et al. Defectos en la fagocitosis . Aspectos clínicos , moleculares y terapéuticos. *Revista Cubana Hematología Inmunología Hemoterapia* 2004;20(1)
16. Tonsi A, Arabia S. Hyper-IgE syndrome. A study involving 30 children from Makkah - Saudi Arabia. *Eur. J. Pediatr. Dermatol.* 14, 209-214, 2004.
17. Orozco CV, Velásquez LH, Hilda N, Méndez S, Augusto B. Artículo de revisión Síndrome de hiper IgE. Diagnóstico y manejo oportunos. *Revista Alergia México* 2008;55(1):38–45.
18. Virginia D'Alessandro. Diagnóstico temprano del síndrome de hiper IgE : un desafío. *Arch Argent Pediatric* 2004;102(4):290–5.
19. Noriega A. Síndrome de Hiper IgE : sus manifestaciones cutáneas Revisión casuística y bibliográfica. *Arch. Argent. Dermatol.* 2013; 63 (4): 125-136.
20. Tagle M.Teresa, Melys A., Castillo A., Norambuena X., Quezadal A. Síndrome Hiper IgE : a propósito de tres casos clínicos. *Rev Chil Pediatr* 2014;85(3):328–36.

21. Puebla-Miranda M, Martínez-luna E, Vega-memije ME. Síndrome de hiperinmunoglobulinemia E . Boletín Médico del Hospital Infantil de México 2009;66.
22. Quero-Hernández A, Aspiros RZ, Rodríguez HT. Deficiencia en adhesión leucocitaria tipo I. Presentación de un caso y revisión de la literatura. Revista Mexicana de Pediatría .Artemisa 2007;80-3.
23. Ortiz-Ortiz L. Inmunodeficiencias primarias : una breve revision.Revista Médica de la Extensión Portuguesa ULA; 2008;33-52.
24. Sainz. Síndromes de deficiencia de adhesión leucocitaria. Acta Pediatr Esp 2007;65(8):377-80.
25. Ramírez-Vargas NG, Berrón-ruiz LR, Berrón-pérez R, Blancas-galicia L. Diagnóstico de enfermedad granulomatosa crónica; pacientes y portadoras. Rev. Alerg. México; 2011;58(2):120-5.
26. De Oliveira-Junior EB, Bustamante J, Newburger PE, Condino-Neto a. The human NADPH oxidase: primary and secondary defects impairing the respiratory burst function and the microbicidal ability of phagocytes. Scand J Immunol [Internet]. 2011 May [cited 2014 Aug 22];73(5):420-7.
27. Oleastro DM, Galicchio M, Roy A, Rosenzweig S, Craviotto R, Feldman G. Enfermedad granulomatosa crónica : ¿ cómo reconocerla ? Arch Argent Pediatr 2001;99(6):498-502.
28. Büller HR, Krediet RT, Reiss P, Richel DJ. published in collaboration with the netherlands association of internal medicine. Chronic Granulomatous Disease. The Netherlands Journal of Medicine, 2010, vol68.
29. Mühlebach TJ, Gabay J, Nathan CF, Erny C, Dopfer G, Schroten H, et al. Treatment of patients with chronic granulomatous disease with recombinant human interferon-gamma does not improve neutrophil oxidative metabolism, cytochrome b558 content or levels of four anti-microbial proteins. Clin Exp Immunol [Internet]. 1992 May;88(2):203-6
30. Álvarez-cardona A, Yamazaki-nakashimada MA, Espinosa-padilla SE. Artículo de revisión Enfermedad granulomatosa crónica.Revista Alergia México 2009;56(5):165-74.
31. Song E, Jaishankar GB, Saleh H, Jithpratuck W, Sahni R, Krishnaswamy G. Chronic granulomatous disease: a review of the infectious and inflammatory complications. Clin Mol Allergy [Internet]. 2011 Jan;9(1):10.
32. Interferon gamma for chronic granulomatous disease. The New England Journal of Medicine Downloaded from nejm.org, vol 325, número 21.

33. Collin M, Olse A. EndoS , a novel secreted protein from *Streptococcus pyogenes* with endoglycosidase activity on human IgG. *EMBO J*. 2001;20(12).
34. Black DS, Bliska JB. The RhoGAP activity of the *Yersinia pseudotuberculosis* cytotoxin YopE is required for antiphagocytic function and virulence. *Mol Microbiol* 2000;37.
35. Cullen TW, Giles DK, Wolf LN, Ecobichon C, Boneca IG, Trent MS. *Helicobacter pylori* versus the host: remodeling of the bacterial outer membrane is required for survival in the gastric mucosa. *PLoS Pathog* [Internet]. 2011 Dec [cited 2014 Aug 24];7(12):e1002454.
36. Dai S, Sarmiere PD, Wiggan O, Bamburg JR, Zhou D. Efficient *Salmonella* entry requires activity cycles of host ADF and cofilin. *Cell Microbiol* [Internet]. 2004 May [cited 2014 Sep 11];6(5):459–71.
37. Ankur Dalia. Minimization of bacterial size allows for complement evasion and is overcome by the agglutinating effect of antibody. *Cell Host Microbe* 2012;10(5):486–96.
38. Andersen-Nissen E, Smith KD, Strobe KL, Barrett SLR, Cookson BT, Logan SM, et al. Evasion of Toll-like receptor 5 by flagellated bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(26):9247–52.
39. Rohde K, Yates RM, Purdy GE, Russell DG. *Mycobacterium tuberculosis* and the environment within the phagosome. *Immunol Rev* [Internet]. 2007 Oct;219:37–54.
40. Bobadilla-Lozoya K., Rivas-Santiago B., Sada-Diaz E., Torres-Rojas M. Biogénesis del fagolisosoma micobacteriano y su papel en el procesamiento y presentación del antígeno. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex*. 2009;22.
41. Pasquinelli V. Contribución de la respuesta inmune del huésped al control de la infección por *Mycobacterium tuberculosis* Contribution of the Immune response of the host to the control of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Quimica Viva* 2008; vol.7.
42. Brighenti S, Lerm M. How *Mycobacterium tuberculosis* Manipulates Innate and Adaptive Immunity - New Views of an Old Topic. 2008; www.intechopen.com