UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGIA
INFORME MONOGRAFICO

CARACTERISTICAS HISTOPATOLÓGICAS DE LAS DEFENSINAS Y SU RELACIÓN CON EL EPITELIO

Autores:

Arturo Burgos
Jenny Gómez
Angélica Molina
Willard Rodríguez

Tutor
Lic. Alcira Argüello

Bárbula, Octubre de 2015

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGIA
INFORME MONOGRAFICO

CONSTANCIA DE ENTREGA

CARACTERISTICAS HISTOPATOLÓGICAS DE LAS DEFENSINAS Y SU RELACIÓN CON EL EPITELIO

La presente es con la finalidad de hacer constar que el trabajo Monográfico titulado:

Presentado por los Bachilleres:

Arturo Burgos CI: 22.206.404
Jenny Gómez CI: 24.913.376
Angélica Molina CI: 24.423.678
Willard Rodríguez CI: 22.424.915

Fue leído y se considera apto para su presentación desde el punto de vista metodológico, por lo que tienen el derecho de hacer la presentación final de su TRABAJO MONOGRAFICO. Sin más a qué hacer referencia, se firma a petición de la parte interesada a los ____ días del mes de _____del año 2015.

Alcira Argüello

C.I. Nº: 4.463.121

_____

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
T.S.U HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRÁFICO

CONSTANCIA DE APROBACIÓN

Los suscritos miembros del jurado designado para examinar el Trabajo Monográfico titulado:

CARACTERISTICAS HISTOPATOLÓGICAS DE LAS DEFENSINAS Y SU RELACIÓN CON EL EPITELIO

Presentado por los bachilleres:

Arturo Burgos CI: 22.206.404
Jenny Gómez CI: 23.913.376
Angélica Molina CI: 24.423.678
Willard Rodríguez CI: 22.424.915

Hacemos constar que hemos examinado y aprobado el mismo, y que aunque no nos hacemos responsables de su contenido, lo encontramos correcto en su calidad y forma de presentación.

Fecha: _____

_____

Prof. Tomás Rojas

_____ _____

Prof. Nairalith Ramos Prof. Marielisa Gil

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
T.S.U HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRÁFICO

CARACTERISTICAS HISTOPATOLÓGICAS DE LAS DEFENSINAS Y SU RELACIÓN CON EL EPITELIO

Autores:
Arturo Burgos
Jenny Gómez
Angélica Molina
Willard Rodríguez
Tutor
Lic. Alcira Argüello

RESUMEN

Los péptidos antimicrobianos (Defensinas) son moléculas efectoras del sistema inmune innato que tienen funciones contra gérmenes, son de amplio espectro (incluyendo hongos y virus), y juegan un papel importante, aunque poco conocido hasta el momento, en los procesos inflamatorios, liberación de citoquinas, inducción inmune, cicatrización. La siguiente investigación tiene como objetivo general describir las características histopatológicas de las defensinas y su relación en los distintos tipos de epitelios, y como objetivos específicos, identificar las características morfológicas de las Defensinas, describir el efecto de las defensinas en el epitelio y profundizar en la importancia. Metodológicamente esta investigación es de tipo bibliográfica, con un diseño documental y una modalidad de tipo monográfico es por ello que esta investigación será un gran aporte, ya que permitirá conocer a fondo su desempeño e importancia como mecanismo de defensa del cuerpo humano y su labor en los distintos tipos de epitelios ya que son pocas las líneas de investigación que se han realizado sobre este tema y de esta manera lograr finiquitar el principal objetivo en la investigación y la iniciativa de informar despertando el interés sobre el tema en los estudiantes de Histotecnología

Palabras Clave: Péptidos Antimicrobianos, Defensinas, sistema inmune innato, epitelios, Histotecnología.

UNIVERSITY OF CARABOBO
FACULTY OF HEALTH SCIENCES
SCHOOL OF BIOMEDICAL AND TECHNOLOGICAL SCIENCES
S. T. U. IN HISTOTECHNOLOGY
A CASE WORK

HISTOPATHOLOGIC FEATURES OF DEFENSINS AND ITS RELATION WHIT THE EPITHELIUM

Authors:
Arturo Burgos
Jenny Gómez
Angélica Molina
Willard Rodríguez
Specialist Tutor:
Lic. Alcira Argüello

ABSTRACT

Antimicrobial peptides (defensins) are effector molecules of the innate immune system that have functions against germs, are broad spectrum (including fungi and viruses), and play an important role, though little known so far, in inflammatory processes, cytokines release, immune induction and healing. This research has as general objective to describe the histopathologic features of defensins and their relationship to the different types of epithelia, and specific objetives, identify morphological features of defensins, describe the effect of defensins in the epithelium and deepen importance. Methodologically this research is bibliographic type with a documentary design and monographic mode is why this research will be a great addition , as it will allow insight into their performance and importance as a defense mechanism of the human body and its work in different types of epithelia as few lines of research that have been done on this issue and thus achieve the main objective finalize research and reporting initiative arousing interest in the subject among students in Histotechnology.

Key Words: Antimicrobial peptides Defensins, innate immune system, epithelia, Histotechnology.

ÍNDICE

PÁG.

CONSTANCIA DE APROBACIÓN…….....ii

CONSTANCIA DE ENTREGA…….....iii

RESUMEN…….....iv

ABSTRACT……...….....v

INTRODUCCIÓN……...1

DESARROLLO…….....5

ANTECEDENTES…….....6

CARACTERISTICAS HISTOPATOLOGICAS……7

CLASIFICACIÓN DE LAS DEFENSINAS……..7

PRODUCCIÓN Y SECRECIÓN DE LAS DEFENSINAS……...9

MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS DEFENSINAS……10

PARTICIPACIÓN EN LAS ENFERMEDADES…….13

MECANISMO DE RESISTENCIA……..13

IMPORTANCIA DE LOS EFECTOS EN LOS EPITELIOS……..14

CONCLUSIÓN…….……...16

RECOMENDACIONES…….…….....17

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS……..……..18

INTRODUCCIÓN

Todos los seres vivos son susceptibles a la agresión por microorganismos patógenos, por lo que requieren de un sistema de defensa llamado sistema inmune, el cual debe ser más especializado y complejo a medida que se asciende en la escala filogenética. Por eso, se observa claramente que el sistema inmunitario es responsable de un conjunto de funciones indispensables para la supervivencia. Y la más importante de este sistema, es su capacidad para reconocer, discriminar y eliminar los agentes exógenos y endógenos potencialmente agresores para el organismo. Esta acción eficaz del sistema inmune, desencadena en el individuo una serie de eventos celulares y humorales que colectivamente recibe el nombre de respuesta, la cual puede ser inespecífica o innatos y específicos o adquiridos. [1]

Ahora bien, la respuesta innata o inespecífica, es la que se dirige contra bacterias, virus, hongos y parásitos, y reacciona de inmediato después de una infección y su actividad se reconoce en la forma de una reacción inflamatoria. Es la primera línea de defensa y se desencadena de manera inmediata ante cualquier señal de alarma, detectada en el organismo, siempre reacciona contra los agentes patógenos con mucha rapidez. Se activa a partir del nacimiento, como las barreras físicas de la piel y las membranas mucosas, que impiden la invasión de los tejidos por los microorganismos extraños.[2]

Y la respuesta adaptativa o específica, se activa cuando fallan las defensas inespecíficas, el sistema inmunitario provee defensas especificas y el contacto inicial con un agente extraño o antígeno específico inicia una cadena de reacciones en donde se activan las células efectoras para destruir los microorganismos invasores. Se han identificado dos tipos de defensa específicas. La respuesta humoral, cuya consecuencia es la producción de proteínas llamadas anticuerpos, que son moléculas de globulinas presentes en el plasma sanguíneo, capaces de atacar al microorganismo

invasor (Linfocitos B) y la respuesta celular, que se consigue mediante la formación de un gran número de linfocitos T activados que se habilitan especialmente en los ganglios linfáticos para destruir el microorganismo extraño (Linfocito T)[3]

En referencia a lo anterior, cabe agregar que todos los organismos vivos tienen que defenderse del ataque constante de patógenos. Las capas epiteliales de la piel, el tracto gastrointestinal, el genitourinario y el respiratorio, ofrecen una barrera física contra la infección. En diferentes sitios, los microorganismos son tolerados, y se mantienen en la parte exterior (superficie) de las capas epiteliales, pero en otros sitios, como las vías aéreas bajas o el intestino delgado, la función de la interfase con el medio ambiente (intercambio gaseoso, absorción de nutrientes), podría comprometerse por microbios. Por esta razón las células epiteliales en esta localización, producen péptidos antimicrobianos (AMPs de sus siglas en inglés: Antimicrobial Peptides), que inhiben el crecimiento o establecimiento de bacterias, hongos, parásitos y virus envueltos. [4]

Para cumplir con esta función, el Sistema Inmunitario utiliza un conjunto de células principales (Linfocitos T y B) y accesorias (Monocitos/Macrófagos, Células Dendríticas, Células NK y Granulocitos Neutrofilos, eosinófilos y Basofilos) que habitualmente, colonizan tejidos y órganos anatómicamente definidos. Los granulocitos, constituyen un grupo de células accesorias de gran importancia para la respuesta innata, porque son considerados la primera línea de defensa del organismo, su actividad es mucho más eficiente bajo los efectos de citosinas y en presencia de anticuerpos, son células inflamatorias por excelencia. Estas células se originan de la célula madre pluripotente y forman parte de la serie mieloide, la cual su diferenciación conduce a la producción de tres tipos celulares, presentes en la sangre periférica: Neutrofilos, eosinófilos y basófilos. [5]

Los Neutrofilos son llamados también micrófagos, por comparación con los macrófagos, con los cuales comparten la actividad fagocitica. Son células que poseen un núcleo multilobulado y abundantes gránulos citoplasmáticos que son verdaderos lisosomas especializados. Cuando el neutrófilo atrapa o ingiere un agente patógeno ocurre una secuencia de eventos mecánicos y la puesta en marcha de una serie de reacciones químicas en el citoplasma que conducen a la destrucción de ese agente.[5]

Los neutrófilos y otras células fagocíticas como los macrófagos y los monocitos, incorporan al agente microbiano, estos gránulos citoplasmáticos posteriormente lo destruyen en su interior dentro de las vacuolas fagocíticas. La destrucción del microbio se hace por mecanismos oxidativos vinculados a la producción intracelular de otros elementos oxidantes y por la acción de enzimas y otras sustancias antimicrobianas no oxidativas. Estas sustancias son péptidos o polipéptidos antimicrobianos endógenos que están localizados en los gránulos azurófilos del citoplasma de los polimorfonucleares neutrófilos y que descargan el contenido granular a la vacuola que contiene el germen fagocitado; entre las moléculas antimicrobianas derivadas del gránulo azurófilos del neutrófilo se encuentran el factor incrementante de la permeabilidad y del efecto bactericida, la catepsina G, la azurocidina y otros polipéptidos entre los que se encuentran las defensinas.[6]

La siguiente investigación tiene como objetivo general describir las características histopatológicas de las defensinas y su relación en los distintos tipos de epitelios, ya que las defensinas son moléculas efectoras del sistema inmune innato que tienen funciones contra gérmenes y como objetivos específicos, identificar las características morfológicas de las defensinas, describir el efecto de las defensinas en el epitelio debido a que son de amplio espectro y juegan un papel importante, aunque poco conocido hasta el momento, en los procesos inflamatorios y la liberación de citoquinas y profundizar en la importancia.

Desde el punto de vista metodológico, esta investigación es de tipo bibliográfica, con un diseño documental y una modalidad de tipo monográfico que busca enfocar la atención y curiosidad en desarrollar el tema, de los péptidos antimicrobianos (defensinas) el cual son polipéptidos que integran un conjunto de moléculas de características heterogéneas de complicada sistematización. Este tipo de investigación utiliza como fuente primaria el documento escrito en diferentes formas basándose esencialmente en el resultado de otras investigaciones y de reflexiones teóricas, siendo estas, a partir de su lectura, analizadas e interpretadas.

Desde el punto de vista teórico, las defensinas o péptidos antimicrobianos, es un tema extenso pero con muy poca información entre los estudiantes de salud específicamente en los estudiantes de Histotecnología, es por ello que esta investigación será un gran aporte, ya que permitirá conocer a fondo su desempeño e importancia como mecanismo de defensa del cuerpo humano y su labor en los distintos tipos de epitelios ya que son pocas las líneas de investigación que se han realizado sobre este tema y de esta manera lograr finiquitar el principal objetivo en la investigación que es; Describir las características histopatológicas de las defensinas en el organismo humano y la iniciativa de informar despertando el interés sobre el tema en los estudiantes de Histotecnología.

DESARROLLO

Reseña Histórica

Se considera que los péptidos antimicrobianos (defensinas) existen desde el inicio de la evolución de la respuesta inmune. Su amplia distribución en el reino animal y vegetal demuestra que constituyen una parte esencial de la inmunidad de los organismos multicelulares. Los péptidos antimicrobianos (defensinas) están presentes en plantas, insectos, animales e inclusive peces. A pesar de que algunos péptidos antimicrobianos (defensinas) habían sido descritos previamente, solo empezaron a ser tomados en serio desde 1987, cuando Michael Zasloff, del departamento de bioquímica de la universidad de Pensilvania, observo mientras trabajaba con oocitos de la rana Xenopus laevis que sus tejidos raramente sufrían infecciones, a pesar de la cirugías realizadas. [7]

Esto lo llevo a la identificación del compuesto activo producido por la rana un péptido de 23 aminoácidos que llamo maganina. Nuevas pruebas permitieron determinar que este compuesto era activo contra una amplia variedad de bacterias actuando de manera específica y con rangos de actividad sorprendentes; se desencadena así un gran interés en el estudio y actividad de las células similares en otros organismos. Michael Zasloff postulo que "Las defensinas se encuentran en todos los organismos vivos, son componentes integrales del sistema inmune. Estas defensinas poseen, toxicidad selectiva que permite atacar de manera específica las células blanco mediante un mecanismo que al parecer, dificultan la aparición de fenómenos de resistencia. [7]

Según se ha visto, desde hace tres décadas, aproximadamente, se ha encontrado que la linfa de los insectos, los gránulos de los neutrófilos humanos y la piel de las ranas

contenían péptidos que podían matar bacterias en cultivo. Desde entonces se han observado más de 600 péptidos catiónicos con propiedades antimicrobianas en casi todas las especies, desde bacterias hasta vertebrados. Algunos de estos péptidos, además de destruir directamente microorganismos, parecen capaces de reclutar y promover otros elementos de la inmunidad, particularmente de la inmunidad innata. [8-7]

ANTECEDENTES

Para el desarrollo de esta monografía, fue necesaria la investigación en libros, artículos e internet, que tuviesen una relación directa con el tema. Seguidamente se citan los autores e investigaciones que se consideran los precedentes inmediatos de este estudio:

Terán Juarez, L., Asbun Boajail, J., Guani Guerra E., (2011) "Inducción de péptidos antimicrobianos en el epitelio de vías respiratorias" [9] El cual tiene como objetivo, Inducir la producción de hBD-2 y catelicidina después de la estimulación del epitelio respiratorio con bacterias inactivadas y colecalcifero. Y su metodología fue La investigación es un estudio meta analítico, sistemático, tipo cuantitativo, primero se realizó un estudio in vitro, estimulando células A-549 con bacterias inactivadas y colecalciferol. En un segundo estudio, esta vez con un modelo in vivo, se realizaron lavados nasales a 12 voluntarios sanos, en condiciones basales, y posterior a un reto nasal, donde por separado se estimuló con bacterias inactivadas (20 millones), colecalciferol (400 IU), mezcla de bacterias inactivada y colecalciferol, o con un placebo que contenía solución salina isotónica y glicerol. Y se obtuvieron los siguientes resultados: No se detectó hBD-2 o catelicidina por ELISA en el sobrenadante del cultivo de células A-549, después de ser estimuladas con bacterias inactivadas y/o colecalciferol.

La estimulación de la inmunidad innata para producir hBD-2, podría ser utilizada para prevenir e inclusive tratar infecciones causadas por patógenos respiratorios.

Este trabajo dio un gran aporte a esta investigación porque refleja como el epitelio del tracto respiratorio reaccionó ante las bacterias, que se aplicaron, para demostrar como el organismo lo protege.

Características Histopatológicas

Los péptidos antimicrobianos (Defensinas) constituyen un mecanismo de defensa ampliamente distribuido en plantas, insectos y vertebrados. Estas moléculas que son producidas por diferentes tejidos y tipos celulares, se clasifican en diferentes familias, de acuerdo con su estructura secundaria. La estructura más importante es la de péptido anfipático con 2-4 estructuras beta, alfa-hélice anfipática, estructura de asa y estructura extendida. La composición de aminoácidos, su carga neta (generalmente catiónica), así como sus características anfipáticas y de tamaño, favorecen su interacción con bicapas lipídicas, principalmente aquellas que forman las membranas citoplasmáticas de patógenos (bacterias, hongos, virus envueltos y parásitos), en las que forman poros. [1]

Clasificación

Los péptidos antimicrobianos se pueden agrupar de acuerdo a su tamaño, estructura dimensional, sus aminoácidos predominantes, etc. Universalmente se pueden agrupar en cuatro grupos principales:

Grupo I: péptidos lineales con estructura alfahelicoidal. Grupo II: estructuras plegadas en forma beta, estabilizadas por puentes disulfuro. Grupo III: péptidos con predominancia de uno o más aminoácidos. Grupo IV: péptidos con estructuras circulares o en asa. [10]

Una clasificación más sencilla con base en su homología estructural es la diferenciación por familias:

I.- Defensinas: son péptidos catiónicos, no glicosilados, ricos en arginina, con un peso molecular entre 3.5 y 4.5 KDa y que contienen en su estructura tres cisternas que forman puentes disulfuro intramoleculares muy característicos.

a) La alfa-Defensinas tienen entre 29 a 35aminoácidos. Fueron las primeras en ser aisladas en humanos a partir de neutrófilos en 1985. Se reconocen seis de estos antígenos antimicrobianos en humanos, los péptidos neutrofílicos humanos 1, 2, 3 y 4 (HNP) localizados en los gránulos azurófilos de los neutrófilos, y las alfa-Defensinas 5 y 6 que se encuentran en las células de Paneth del intestino delgado controlando el sobre crecimiento de bacterias a este nivel.

b) Las beta-Defensinas tienen de 36 a 42 aminoácidos. Sus tres puentes disulfuro están distanciados en forma diferente a las alfa-Defensinas y por eso se les dio el nombre beta. La primera beta-Defensina fue aislada de la lengua de vaca hacia 1991, pero en los humanos fue aislada por primera vez a partir de hemofiltrados. La beta-Defensina humana 1 (hBD-1) se expresa constitutivamente a nivel del tracto génitourinario y respiratorio. La hBD-2 se expresa en el epitelio de casi todas las superficies humanas internas y en la piel. Los genes de alfa y la beta Defensinas se ubican en el cromosoma 8p23. Recientemente se han aislado 28 nuevos genes de Defensinas humanas y 43 en el ratón pero se desconoce su función.

c) Las teta-Defensinas se han aislado únicamente del mono rhesus y fueron nombradas así por su configuración circular. No hay evidencia sobre su presencia en otros tejidos, ni sobre sus funciones hasta el momento. [10]

II- Catelicidinas La única catelicidina humana conocida actualmente (LL-37) fue aislada de células mieloides, pero también se ha aislado en la piel inflamada. La LL-37 es producida en el tracto respiratorio por las mismas células productoras de beta-Defensinas en todos los epitelios y funcionan igual que éstas. En los neutrófilos es almacenada en gránulos en forma de propéptidos y segmentada por la proteasa, después de su liberación. Su gen se localiza en el cromosoma 18.

III- Bacteriocinas y lantibióticos: son sintetizados ribosomalmente por muchos microorganismos. Por eso tienen gran atención en la actualidad ya que la nisina, un tipo de lantibiótico, es un péptido antimicrobiano muy prometedor como preservativo de alimentos.

IV- Granulicina: producida por linfocitos T citotóxicos y NK. Es muy activa contra gérmenes Grampositivos, negativos, hongos y parásitos. Está relacionada con las saponinas, pequeñas proteínas lipídicas presentes en el sistema nervioso central, pero se desconoce su actividad exacta.

Producción y Secreción de las Defensinas

Las defensinas son producidos por diferentes tipos celulares que se encuentran distribuidos en todo el cuerpo, formando parte de la barrera primaria contra patógenos, dentro de estas células podemos encontrar los Queratinocitos, células epiteliales del tracto respiratorio, del tracto genitourinario, células de Paneth del intestino delgado, neutrófilos y células asesinas naturales o Natural Killer (NK), en células cebadas y en glándulas endocrinas. En humanos las α-defensinas HNP 1-4 fueron inicialmente aisladas de neutrófilos, pero también son producidas por monocitos/macrófagos y se liberan al medio extracelular. [4]

Estos péptidos antimicrobianos (Defensinas) son sintetizados constitutivamente en promielocitos (células precursoras de neutrófilos) en médula ósea posteriormente; en el caso de las defensinas, éstas son empaquetadas en los gránulos azurófilos (gránulos primarios), una población de gránulos que están destinados a la fusión con vacuolas fagocíticas. Por otra parte, las defensinas HD5 y HD6 son producidas por células de Paneth en el intestino delgado. Estas defensinas son liberadas en el lumen del intestino delgado a nivel de las criptas intestinales después de la exposición a bacterias o estímulos colinérgicos, pero probablemente su síntesis sea constitutiva La alfa-defensina HD5 también se ha detectado en tejido reproductivo [4]

Como se mencionó anteriormente, existen varios tipos de β-defensinas HBD-1, -2; la defensina HBD1 se expresa principalmente en tracto urinario, pero también en células epiteliales en queratinocitos en la piel y glándulas sudoríparas. La expresión de esta molécula es inducida por la exposición al lipopolisacárido de bacterias Gram negativas (LPS) o a peptidoglicana en queratinocitos. La HBD2 fue aislada originalmente de lesiones de piel de pacientes que padecían de psoriasis, es producida principalmente por queratinocitos y células epiteliales de varios tejidos, en células mieloides (células dendríticas y macrófagos). [4]

Mecanismo de Acción

Actividad Antimicrobiana:

Entre las características fisicoquímicas necesarias para la actividad antibacteriana de los péptidos antimicrobianos (Defensinas), se encuentran que poseen carga neta positiva, es decir son catiónicos, lo que permite su interacción con los fosfolípidos aniónicos de la membrana bacteriana o de otros patógenos. También se sabe que muestran anfipaticidad, es decir contienen regiones apolares (con aminoácidos hidrofóbicos) y regiones con cargas positivas (aminoácidos catiónicos, arginina, lisina o histidina), lo que facilita que posterior a la interacción de las regiones

catiónicas con los fosfolípidos aniónicos, las regiones polares interaccionen con las cadenas polares de los fosfolípidos, lográndose la inserción del péptido en la membrana microbiana. [4]

Los péptidos antimicrobianos son flexibles, lo cual permite la interiorización de los mismos hacia el citoplasma bacteriano. Todas estas características son necesarias para que los péptidos antimicrobianos (AMPs) puedan funcionar como agentes antimicrobianos. Originalmente se propuso que la permeabilización de la membrana era el único mecanismo de acción antibacteriano de los AMPs, pero existe evidencia de que algunos ejercen mecanismos de acción alternativos que actúan sobre diferentes bacterias y hongos.

El primer paso en la interacción membrana-péptido, es la atracción entre el péptido y la célula blanco por medio de uniones electrostáticas entre los péptidos catiónicos o aniónicos y estructuras de la superficie bacteriana, por ejemplo de los grupos fosfato presentes en la membrana (fosfato de los LPS de bacterias Gram-negativas, o ácidos lipoteicoicos presentes en la superficie de bacterias Gram-positivas).

El segundo paso es el anclaje, se ha observado que a una baja relación péptido/lípido, los péptidos se unen paralelamente a la bicapa lipidica. Los péptidos α-helicoidales, β-plegadas y θ-defensinas se absorben y recubren la membrana, quedando en un estado inactivo. Si se incrementa la relación péptido/lípido, los péptidos se orientan perpendicularmente a la membrana, formando poros transmembranales. De acuerdo con el efecto que ejercen sobre las membranas de patógenos, las Defencinas (AMPs) se clasifican en permeabilizadores (los que hacen poros) y no permeabilizadores.

Los péptidos no permeabilizadores presentan diferentes mecanismos antibacterianos, como la inhibición de procesos metabólicos, entre los que se encuentran: la inhibición

de síntesis de DNA el cual se lleva a cabo por la inhibición de síntesis de proteínas y la inducción de la degradación de algunas proteínas que son requeridas para la replicación del DNA, un ejemplo de esta actividad la tiene la proteína rica en prolina PR-39. [4]

Actividad Antifúngica

Además de la actividad de este tipo de compuestos contra bacterias, se ha observado que lisan las células o que interfieren en la síntesis de proteínas de pared celular. La diversidad en la estructura de los péptidos que actúan sobre hongos muestra que no hay dominios de estructura conservada que se puedan relacionar con la actividad antifúngica. Es importante mencionar que los AMPs de plantas que tienen actividad antifúngica son ricos en aminoácidos polares y aminoácidos neutros, suponiendo que debe existir una relación única entre estructura y función. [4]

Actividad Antiparasitaria:

Actividad antiparasitaria, como ejemplo se tiene la magainina 2, fue uno de los primeros AMPs descritos que mostró actividad antiparasitaria, específicamente contra protozoarios. Los ensayos realizados en este péptido en *Paramecium caudatum* condujeron a la lisis de este microorganismo. Los estudios de la relación de la actividad con la estructura indicaron que la actividad antiprotozoaria y antiviral es mediada por diferentes mecanismos.

Actividad Antiviral:

Con referencia a esta, los péptidos también presentan actividad antiviral, siendo el mecanismo de acción el bloqueo de la entrada del virus por la interacción con heparán sulfato. El heparán sulfato es el glucosaminoglucano más importante para la unión viral. El bloqueo del heparán sulfato reduce la infección viral. Un segundo mecanismo antiviral consiste en bloquear la diseminación entre células. El efecto de

los péptidos antivirales está relacionado con la capacidad de impedir la diseminación del virus de una célula infectada a otra vecina a través de uniones estrechas o la inhibición de formación de células gigantes, este efecto es una propiedad de las α-hélice-α y del IFN-γ, el cual reduce la diseminación intercelular. El tercer mecanismo descrito es el bloqueo de la entrada del virus por la interacción con receptores específicos de las células del huésped, influenciando en la unión viral, la entrada o los puentes intra.

Otro mecanismo más que bloquea la entrada del virus, es a través de la interacción directa con glucoproteínas virales. La interacción de estos péptidos con proteínas localizadas en la envoltura del virus se ha propuesto que influyen en el proceso de la entrada del mismo.[4]

Participación de las Defensinas en Enfermedades

Los AMPs tienen una participación muy importante en diversas enfermedades, como por ejemplo la dermatitis alérgica crónica en donde la catelicidina LL37GhCAP18 (de las siglas en inglés Human Cathelicidin Antimicrobial Peptide) es capaz de interferir con la interacción del ácido hialurónico (que es liberado después del daño del tejido) y su receptorTLR-4 y CD44, lo que ocasiona una inhibición en la liberación de citocinas proinflamatoria. Por otra parte, la disminución en la expresión de la catelicidina es un factor predisponente para el incremento en la susceptibilidad a infecciones bacterianas y la liberación de mediadores de la inflamación por células dendríticas.

Mecanismos de Resistencia

Los péptidos antimicrobianos han sido utilizados por la naturaleza por billones de años. Por lo que, la resistencia de las bacterias a los péptidos antimicrobianos está determinada por un número de propiedades en la bacteria que incluyen carga y estructura de los componentes de la membrana externa, como lipopolisacáridos,

composición de los lípidos y presencia de un potencial electroquímico en la membrana citoplasmática, y la respuesta de la bacteria a cambios ambientales y bajo estrés, así como mecanismos de transporte, flujo y degradación del péptido. Por ejemplo, en *Staphylococcus aureus* se reduce la carga neta negativa al introducir aminoácidos básicos como d-alanina, desde el citoplasma hacia la superficie del ácido teicoico. [8]

En otras bacterias, los polisacáridos de la cápsula limitan la interacción de los péptidos antimicrobianos con sus objetivos de membrana, lo que demuestra que los mutantes sin cápsula de *Klebsiella pneumoniae* son más sensibles a la muerte por los péptidos antimicrobianos. Pero en algunas bacterias Gram negativas, por ejemplo, *Yersinia enterocolitica*, las alteraciones en la producción de proteínas de la membrana externa se relacionan con la resistencia. En varios organismos se ha descrito la producción de enzimas proteolíticas capaces de degradar los péptidos antimicrobianos. [8]

Importancia de los efectos de las defensinas en los Epitelios

Los péptidos antimicrobianos constituyen un grupo de sustancias desarrolladas por la naturaleza a través del proceso evolutivo, por la compleja interacción entre el huésped y el patógeno, con un espectro de actividad amplio y mecanismos de acción complejos. El poder comprender este tipo de sustancias nos enseña una fuente prácticamente inagotable de péptidos antimicrobianos, que pueden entrar a la terapéutica por medio de varias estrategias: como monoterapia, para el tratamiento de infecciones, en combinación con los antibióticos convencionales, con el fin de promover un efecto sinérgico o aditivo a estos últimos; como agentes inmunomoduladores que incrementen la inmunidad innata natural, y como agentes neutralizantes de las endotoxinas, con el fin de prevenir complicaciones fatales asociadas con los factores de virulencia que causan el choque séptico. [8]

Como puede observarse, los AMPs presentan una gran variedad de efectos biológicos entre los que encontramos la desgranulación y liberación de histamina de células cebadas, producción de interleusinas (IL-8) por células del epitelio pulmonar, modulación de la activación del complemento, inhibición de la producción de glucocorticoides y aumento en la proliferación de células T y producción de citocinas. Algunas defensinas (conocidas como corticostainas) se oponen a la acción de la hormona adrenocorticortrópica (ACTH) mediante la unión a su receptor sin presentar activación. [4]

Otras actividades de algunas defensinas son: 1) la capacidad de activar canales de calcio sensibles a nifedipina en células de mamíferos, esta actividad requiere únicamente concentraciones muy bajas de defensinas; 2) se le atribuye a los AMPs, en particular a la LL37 la neovascularización (angiogénesis). 3) Otro hallazgo interesante es el efecto cardioprotector de PR-39 (rico en prolina y arginina). [4]

De todo esto se desprende, que a pesar de la pérdida de la función de las barreras que nos protegen (piel y mucosas), y la subsecuente exposición a microorganismos patógenos, las lesiones en epidermis y mucosas de vertebrados, usualmente sanan sin mayores complicaciones. Esto se explica gracias a la gran cantidad de AMPs que son secretados por diferentes células para cubrir y proteger las superficies expuestas al exterior. Debido a que la producción de estos péptidos, está altamente regulada, ya que además de su efecto antimicrobiano, participan directamente regulando procesos inflamatorios a través de funciones de quimiotaxis, promoción de angiogénesis y reparación de tejido dañado.

CONCLUSIONES

Las defensinas constituyen un mecanismo de defensa que inhibe el crecimiento o establecimiento de bacterias, hongos, parásitos y virus. Estos antimicrobianos se encuentran a lo largo de todo el organismo, regulando, controlando todos los mecanismos de respuesta del sistema inmunológico innato y adquirido. Algunos de los sitios de producción y secreción de estos antimicrobianos en los distintos epitelios son: cuero cabelludo (Psoriasina), células epiteliales de pulmón (β-defensinas y LL-37), riñón (α y β Orina HBD 1), colon (β-defensinas), mucosa urogenital (defensinas), piel (defensinas), entre otros tejidos.

Cada una de estas defensinas producidas por sus epitelios correspondientes ya mencionados tiene la función de formar barreras, proteger y defender evitando la producción o la formación de ciertas patologías. Sin embargo, el campo de los péptidos antimicrobianos aún es muy joven, faltan todavía muchas cosas por investigar para saber cómo están involucrados en la inmunpatogénesis de diferentes enfermedades, así como su posible uso terapéutico. Actualmente las líneas de investigación en esta área se van ampliando en todo el mundo.

Ahora bien, aunque a los histotecnologos no les compete el diagnostico final es importante estar informado por que su trabajo es recibir, muestras de tejidos con diversas patologías entre ellas muestras con cáncer en diferentes tipos de epitelios, para su posterior procesamiento, patologías que el histotecnologo debe tener conocimientos de por qué se han producido, para dar aportes y aplicar una buena técnica que al final permitirán al patólogo determinar con exactitud el diagnostico. No se trata de ser un simple procesador de muestras se trata de ser buenos histotecnologos con conocimientos claros de histología que tengan capacidad de dar opiniones con criterio y profesionalidad.

RECOMENDACIONES

Los estudiantes de una carrera de ciencias de la salud como lo es la histotecnología deberían dominar amplios conocimientos en cuanto a lo que abarca el sistema inmunológico, puesto que este es el principal encargado de las defensas ante agentes patógenos que pudieran atacar y afectar el organismo, y los diferentes epitelios que están en constante interacción con superficies externas como la piel, tracto respiratorio, tracto gastrointestinal y genitourinario. Las defensinas son de gran importancia por que ofrecen una barrera física contra agentes infecciosos, para ello se podrían reforzar los métodos de enseñanza tanto teóricos como prácticos es indispensable que exista un amplio conocimiento que permita a un histotecnologo realizar las pruebas especiales para la comparación y el diagnostico de los agentes patógenos.

Por último todo estudiante, investigador o docente de ciencias de la salud debería destacar como los péptidos antimicrobianos (defensinas) actúan en el organismo, para así ampliar las líneas de investigación sobre este tema, propagar la información y demostrar que a pesar de ser poco conocido existe una relevancia ya que forma parte del sistema inmunológico el cual es especializado y complejo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1.- Van 't Hof W. Péptidos antimicrobianos: estructura, función y aplicaciones. Disponible en: http://matematicas.udea.edu.co/~actubiol/actualidadesbiologicas/raba2003v25n78art1.pdf. Consultada el 25, de julio de 2014

2.- Ross-Pawlina. Histología. Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular. 5ta Ed. Editorial Panamericana.2008

3.- Chabalgoity, J. Pereira, M. Rial, A. Inmunidad contra los agentes infecciosos. Disponible en: http://bvs.insp.mx/rsp/articulos/articulo.php?id=000186. Consultada el 16, de julio de 2014

4.- Castañeda, J. Ortega, A. Venegas, A. Aquino, A. Serafín, J. Estrada, S Estrada, I. Péptidos antimicrobianos: péptidos con múltiples funciones. Artículo. Alergia, Asma e inmunología Pediátricas Vol. 18, Núm. 1 • Enero-Abril 2000 pp. 16-29

5.- Sada, E Péptidos antimicrobianos en la inmunidad innata de enfermedades infecciosas. Disponible en: http://bvs.insp.mx/rsp/articulos/articulo.php?id=000186. Consultada el 16, de julio de 2014

6.- Escovar, X Péptidos antimicrobianos cutáneos. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v14_n1/Pdf/a06.pdf. Consultada el 25, de julio de 2014

7.- Zasloff, M Péptidos antimicrobianos: estructura, función y aplicaciones. Disponible en: http://matematicas.udea.edu.co/~actubiol/actualidadesbiologicas/raba2003v25n78art1.pdf. Consultada el 08, de octubre de 2014.

8.- Téllez, G. Castaño, J Péptidos antimicrobianos. Disponible en: http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v14n1/v14n1a07

9.- Terán Juarez, L. Asbun Boajail, J., Guani Guerra E., Inducción de péptidos antimicrobianos en el epitelio de vías respiratorias. Accesible en URL: http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/12084?show=full Consultada el 08, de octubre de 2014

10.- Kreuter A, Jaouhar M, Skrygan M, Tigges, C. Expresión de péptidos antimicrobianos en diferentes subtipos de lupus eritematoso cutáneo. Disponible e: http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2012/rmd121n.pdf Consultada el 08 de octubre de 2014.