

## Clinical and molecular inflammatory alterations in chronic granulomatous disease

### Alteraciones inflamatorias clínicas y moleculares en enfermedad granulomatosa crónica

Ximena León-Lara,<sup>1</sup> Roberto Rodríguez-D'Cid,<sup>1</sup> Ricardo Rioja-Valencia,<sup>1</sup> Alexandra Ayala-Alvirde,<sup>1</sup> Ida Lizbeth Aliaga-Taipe,<sup>2</sup> Sara Espinosa-Padilla,<sup>1</sup> Lizbeth Blancas-Galicia<sup>1</sup>

#### Abstract

Chronic granulomatous disease (CGD) is an innate immunity error. CGD is characterized by deficiency in the function of the NADPH oxidase complex. CGD has been an opportunity to study the role of reactive oxygen species (ROS) in the innate immune system. The absence of ROS produced by NADPH oxidase in neutrophils and macrophages produces a greater susceptibility to bacterial and fungal infections because ROS participate in the elimination of microorganisms. Inflammatory and autoimmune manifestations are also present in CGD, however the causal relationship between lack of ROS and inflammatory symptoms is not entirely understood. Different *in vitro* human and experimental mouse assays have been conducted to try to understand this relationship. Studies show that ROS react with different molecules of the immune system, inhibiting or stimulating their function, which explains why various inflammation pathways are affected in CGD that are not related to each other; therefore, the mechanisms of affectation described have been diverse, such as, a greater production of proinflammatory cytokines, an increase in TH17 lymphocytes and an alteration in processes such as spherocytosis, apoptosis, autophagy and inflammasome. Understanding the mechanisms that lead to inflammation in the deficiency of the NADPH oxidase complex, has led to propose new treatments that act on processes such as autophagy or blocking of proinflammatory cytokines. In this review we describe the different inflammatory manifestations in EGC and the molecular mechanisms through the lack of ROS leads to hyperinflammation.

**Key words:** NADPH oxidase; Inflammation; Chronic granulomatous disease; Granulomas; Reactive oxygen species

**Este artículo debe citarse como:** León-Lara X, Rodríguez-D'Cid R, Rioja-Valencia R, Ayala-Alvirde A, Aliaga-Taipe IL, Espinosa-Padilla S, Blancas-Galicia L. Alteraciones inflamatorias clínicas y moleculares en enfermedad granulomatosa crónica. Rev Alerg Mex. 2020;67(4):370-380

#### ORCID

Ximena León-Lara, 0000-0002-8087-9419; Roberto Rodríguez-D'Cid, 0000-0003-4032-1565; Ricardo Rioja-Valencia, 0000-0003-1894-2525; Alexandra Ayala Alvirde, 0000-0001-5297-7495; Ida Lizbeth Aliaga Taipe, 0000-0002-7144-7462; Sara Espinosa-Padilla: 0000-0003-4859-3151; Lizbeth Blancas-Galicia, 0000-0002-3861-8864



## Resumen

La enfermedad granulomatosa crónica (EGC) es un error innato de la inmunidad. Se caracteriza por deficiencia en la función del complejo de la NADPH oxidasa. La EGC ha sido una oportunidad para estudiar la función de las especies reactivas de oxígeno (ROS) en el sistema inmune innato. La ausencia de ROS producidas por la NADPH oxidasa en los neutrófilos y en los macrófagos lleva a mayor susceptibilidad a infecciones bacterianas y fúngicas, debido a que las ROS participan en la eliminación de los microorganismos. Las manifestaciones inflamatorias y autoinmunes también están presentes en la EGC, sin embargo, no es del todo clara la relación de causalidad entre la falta de ROS y los síntomas inflamatorios. Se han realizado diversos ensayos *in vitro* en humanos y experimentales en ratones para tratar de entender esta relación. Los estudios muestran que las ROS reaccionan con diferentes moléculas del sistema inmune, inhibiendo o estimulando su función, lo que explica que en la EGC se afecten varias vías de la inflamación que no están relacionadas entre sí; por lo tanto, han sido diversos los mecanismos de afectación descritos, como por ejemplo una mayor producción de citocinas proinflamatorias, un incremento en los linfocitos TH17 y una alteración en procesos como eferocitosis, apoptosis, autofagia e inflammasoma. El entendimiento de los mecanismos que llevan a la inflamación en la deficiencia del complejo de la NADPH oxidasa ha llevado a plantear nuevos tratamientos que actúan en procesos como la autofagia, el inflammasoma o el bloqueo de citocinas proinflamatorias. En esta revisión describimos las diferentes manifestaciones inflamatorias en EGC y los mecanismos moleculares a través de los cuales la falta de ROS conduce a la hiperinflamación.

**Palabras clave:** NADPH oxidasa; Inflamación; Enfermedad granulomatosa crónica; Granulomas; Especies reactivas de oxígeno

<sup>1</sup>Secretaría de Salud, Instituto Nacional de Pediatría, Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias, Ciudad de México, México

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Salud del Niño, Laboratorio de Citometría de Flujo, San Borja, Lima, Perú

Correspondencia: Lizbeth Blancas-Galicia.  
blancas.lizbeth@gmail.com

Recibido: 2020-07-19

Aceptado: 2020-08-21

DOI: 10.29262/ram.v67i4.784

## Abreviaturas y siglas

EGC, enfermedad granulomatosa crónica  
IL, interleucina

LX, ligada al cromosoma X  
NADPH, nicotinamida-adenina-dinucleótido fosfato  
ROS, especies reactivas de oxígeno

## Antecedentes

La enfermedad granulomatosa crónica (EGC) es un error innato de la inmunidad de la fagocitosis. En la EGC hay una deficiencia de especies reactivas de oxígeno (ROS) intracelulares y extracelulares producidas por defectos en el complejo de la NADPH (nicotinamida-adenina-dinucleótido fosfato) oxidasa.<sup>1</sup> Desde los años 70 se conoce la participación de ROS en la destrucción de microorganismos dentro del fagolisosoma, la cual explica que los pacientes

con EGC padezcan infecciones graves y recurrentes, tanto por bacterias como por hongos. Recientemente se inició el estudio de ROS como moléculas que participan en la modulación de diferentes vías de la inflamación, conjeturando que la inflamación incrementada anormalmente en diferentes órganos de pacientes con EGC se explica por la deficiencia de ROS. En esta revisión se describen las manifestaciones inflamatorias en la EGC y los mecanismos celulares y moleculares responsables de su génesis.<sup>2</sup>

## La enzima NADPH oxidasa

Las NADPH oxidasas, también abreviadas como NOX, son enzimas de membrana que producen superóxido (NOX1, NOX2, NOX3, NOX5) o peróxido de hidrógeno (NOX4, DUOX1, DUOX2). Los siete miembros de esta familia son regulados de forma diferente. NOX2 es la NADPH oxidasa de los fagocitos y fue la primera isoforma identificada dentro de la familia, además de ser la más estudiada. Se expresa en niveles altos en neutrófilos, monocitos y macrófagos; sin embargo, en células dendríticas y células B se expresa en menor cantidad.<sup>3,4</sup>

Funcionalmente, la NADPH oxidasa de los fagocitos está compuesta de seis subunidades: gp91<sup>phox</sup> (también nombrada como NOX2), p22<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup>, p67<sup>phox</sup>, p40<sup>phox</sup> y Rac. En las células en reposo, el complejo enzimático está en un estado inactivo, gp91<sup>phox</sup> y p22<sup>phox</sup> se localizan en la membrana, mientras que p47<sup>phox</sup>, p67<sup>phox</sup> y p40<sup>phox</sup> se localizan en el citoplasma.<sup>3</sup> Mediante la señalización de diferentes receptores (tipo Toll, FcγR, receptor acoplado a proteína G, receptor de lectina tipo C e integrinas), durante la fagocitosis se inicia el ensamblaje de los componentes de la NADPH oxidasa.<sup>5</sup> El acoplamiento involucra la fusión de la membrana de los gránulos azurófilos con el fagosoma, así como la migración de las proteínas citosólicas p47<sup>phox</sup>, p67<sup>phox</sup> y p40<sup>phox</sup> hacia gp91<sup>phox</sup> y p22<sup>phox</sup>, localizadas en la membrana citoplasmática o en la membrana del fagolisosoma.<sup>6</sup>

La proteína gp91<sup>phox</sup> tiene seis dominios transmembrana y un centro catalítico formado por dos dominios (de la deshidrogenasa y de la transmembrana), el cual contiene los sustratos y grupos prostéticos que realizan la transferencia de electrones. Los electrones son transferidos secuencialmente del lado citosólico de la NADPH oxidasa a flavín-adenín-dinucleótido (localizado en el dominio de la deshidrogenasa); después pasan a los grupos heme y al oxígeno, produciendo el anión superóxido, el cual es convertido a peróxido de hidrógeno y anión hidroxilo. La mieloperoxidasa convierte el peróxido de hidrógeno a ácido hipohaloso, un potente metabolito microbicida. Este proceso es referido como “estallido respiratorio”.<sup>1,7,8</sup>

## La función de las ROS depende de dónde se producen

El citocromo b558, formado por el heterodímero gp91<sup>phox</sup> y p22<sup>phox</sup> está localizado en la membrana citoplasmática, donde se encuentran las vesículas

secretoras y de los gránulos específicos de neutrófilos y macrófagos. El lugar típico de la activación del citocromo b558 y formación de las ROS es el fagolisosoma intracelular; sin embargo, se puede activar a través de otros estímulos como forbol miristato acetato. La generación y liberación de superóxido extracelular o intracelular depende de la localización del citocromo b558 activado. La activación del citocromo b558 es regulada por diferentes vías de señalización, según su localización en las diferentes membranas mencionadas, por lo que la localización de la producción de las ROS determinará su función específica.<sup>1,9</sup> Se cree que los microorganismos tienen diferente sensibilidad a las ROS según el sitio de su generación. Las ROS extracelulares son más importantes para bacterias, por ejemplo *Escherichia coli* resistente a la fagocitosis.<sup>1</sup>

## Las ROS como segundos mensajeros

Las ROS producidas en respuesta a estímulos fisiológicos funcionan como segundo mensajero, es decir, transducen señales extracelulares río abajo en la célula. Las ROS regulan diferentes vías de la señalización celular al oxidar una cisteína a ácido sulfónico (sulfenilación) o una metionina a sulfóxido de diferentes moléculas del sistema inmune. La sulfenilación altera la interacción del hidrógeno con los aminoácidos circundantes y, por consiguiente, la función de la proteína; por ejemplo, se puede inhibir a una tirosina fosfatasa o activar a una tirosina cinasa.<sup>7</sup>

El peróxido de hidrógeno puede distribuirse y atravesar la membrana celular, independientemente del sitio de generación. En presencia de donantes de electrones como Cu<sup>+</sup> o Fe<sub>2</sub><sup>+</sup> se reduce y forma anión hidróxido y radicales hidroxilo. Los radicales hidroxilo son extremadamente reactivos y tienen la capacidad de inactivar moléculas e inducir muerte celular por diferentes vías como apoptosis, necrosis o formación de trampas extracelulares.<sup>10</sup>

## Genes responsables de la enfermedad granulomatosa crónica

Las diferentes subunidades del complejo de la NADPH oxidasa involucradas en la génesis de la EGC, son codificadas por diferentes genes: gp91<sup>phox</sup> por *CYBB*, p22<sup>phox</sup> por *CYBA*, p47<sup>phox</sup> por *NCF1*, p67<sup>phox</sup> por *NCF2* y p40<sup>phox</sup> por *NCF4*. El gen *CYBC1* que codifica para Eros no es parte del complejo de la

NAPDH oxidasa, pero participa como una molécula chaperona de gp91<sup>phox</sup> y también está involucrado en la genética de la EGC. Por variantes patogénicas en el gen *CYBB*, la EGC se transmite con una herencia ligada al cromosoma X (LX) y el resto de los genes con herencia autosómica recesiva.<sup>11</sup>

### Manifestaciones inflamatorias en la EGC

En la EGC las manifestaciones inflamatorias son frecuentes, 70 % de los pacientes padece al menos un episodio (en algunos casos puede ser el primer síntoma).<sup>12,13</sup> Una de las características histopatológicas de la inflamación es la formación de granulomas, de ahí su denominación como enfermedad “granulomatosa”. No solo los pacientes con EGC tienen enfermedades inflamatorias y autoinmunes, sino también los portadores de EGC LX.<sup>14</sup> Gracias a los avances terapéuticos en las infecciones, los pacientes pueden llegar a la edad adulta, aunque en esta etapa de la vida presentan más manifestaciones inflamatorias que aumentan la morbilidad y deterioran la calidad de vida.<sup>13</sup>

Las manifestaciones granulomatosas e inflamatorias ocurren en múltiples órganos. El tracto gastrointestinal es el órgano frecuentemente más afectado. La prevalencia de la afección gastrointestinal es de más de 50 %.<sup>15</sup> El síntoma más frecuente es la diarrea no infecciosa. La patología más frecuente es la enfermedad inflamatoria intestinal que se presenta como inflamación, absceso perianal u obstrucción del tracto gastrointestinal. Los casos de EGC con herencia autosómica recesiva tiene menor frecuencia e inicio más tardío de las manifestaciones inflamatorias y menos inflamación en la histología en comparación con los casos con EGC LX.<sup>16</sup> El pulmón es el segundo órgano más afectado y la disnea es el síntoma más frecuente; entre de los hallazgos histológicos están los granulomas, micronódulos, engrosamiento pleural, linfadenopatía, enfermedad pulmonar intersticial y fibrosis pulmonar.<sup>13</sup> El tracto genitourinario también está involucrado en la EGC, con una frecuencia de 11 %.<sup>17</sup> La enfermedad se manifiesta como cistitis y orquitis granulomatosa u obstrucción ureteral o uretral.<sup>13,18</sup> Otras manifestaciones inflamatorias se localizan en ojos, piel y sistema nervioso central.<sup>13</sup>

Se han reportado casos de EGC relacionados con lupus eritematoso sistémico y cutáneo, artritis autoinmune, púrpura trombocitopénica idiopática

y enfermedad de Kawasaki.<sup>19</sup> Las manifestaciones autoinmunes e inflamatorias han sido descritas tanto en pacientes como en portadores de EGC LX;<sup>20,21</sup> en estos últimos se ha demostrado que el riesgo de desarrollar este tipo de manifestaciones no está relacionado con el grado de actividad oxidativa residual, pero solo basta una pequeña cantidad de neutrófilos sin actividad oxidativa para detonar una falta de regulación del sistema inmunitario.<sup>21,22</sup>

Una complicación inflamatoria sistémica es el síndrome de activación macrofágica (fiebre, linfadenopatía, hepatoesplenomegalia, citopenia, enzimas hepáticas elevadas y coagulopatía). Esta complicación se puede presentar en pacientes con EGC con infecciones graves en quienes los macrófagos son activados por citocinas inflamatorias no reguladas. Se sugiere que el fenotipo hiperinflamatorio de la EGC predispone genéticamente al síndrome de activación macrofágica.<sup>23</sup> La mayoría de estos casos están asociados con infecciones por *Burkholderia cepacia*, *Aspergillus* spp. y *Leishmania* spp.<sup>24</sup>

En la EGC existe una relación compleja entre inflamación e infección. Particularmente las infecciones fúngicas se asocian con una respuesta inflamatoria excesiva de alta letalidad.<sup>16</sup> En ratones con EGC, la inflamación sistémica está incrementada, aun en respuesta a estímulos no infecciosos.<sup>25</sup> Independientemente de los mecanismos específicos de hiperinflamación, los corticosteroides se han empleado en EGC como terapia coadyuvante en la infección, por reducción de activación, proliferación y diferenciación de varios tipos celulares, incluyendo macrófagos y linfocitos, los cuales son componentes claves para la formación del granuloma. En algunos casos, como el absceso hepático estafilocócico y la neumonía por *Nocardia*, el uso concomitante de esteroides y antimicrobianos facilita y acelera la resolución de la infección, además que previene la necesidad de una intervención quirúrgica.<sup>26,27</sup>

En cuanto al tratamiento de las manifestaciones inflamatorias, se han usado corticosteroides e inmunosupresores. Se ha propuesto el uso otros medicamentos como cloroquina, rapamicina, pioglitazona y talidomina.<sup>28,29,30,31</sup>

En cuanto a las características de las manifestaciones inflamatorias en México, nuestro grupo describió una cohorte 93 pacientes; se detectaron granulomas en uno o más órganos en 56 % de ellos. Los órganos afectados fueron pulmón (44 %), intestino

(11 %), piel (17 %), esófago/píloro (4 %) y vejiga (1 %). La estomatitis/gingivitis ocurrió en 27 % de los casos. Dos pacientes adultos padecieron periodontitis crónica que los llevó a pérdida de múltiples piezas dentarias. La enfermedad pulmonar estuvo presente en 45 % de los casos. Cabe mencionar que en los pacientes de México fueron poco frecuentes las manifestaciones gastrointestinales más mencionadas en la literatura, aunque una posibilidad es que no se hayan diagnosticado.<sup>13,21</sup> Las manifestaciones autoinmunes como anemia hemolítica, trombocitopenia, autoinmunidad ocular, enfermedad de Kawasaki, lupus eritematoso sistémico, síndrome antifosfolípido y tiroiditis y hepatitis autoinmune también se hicieron presentes.<sup>11</sup>

### El fenotipo inflamatorio en enfermedad granulomatosa crónica por deficiencia de p40<sup>phox</sup> y Eros

Matute *et al.* describieron el primer paciente con EGC por deficiencia de la subunidad p40<sup>phox</sup> con colitis granulomatosa y sin infecciones graves. En esta deficiencia hay una producción normal de ROS extracelulares pero una falta de ROS intracelulares. La primera caracterización clínica de la deficiencia de p40<sup>phox</sup> fue llevada a cabo por van Geer *et al.* en un estudio de 24 casos en el año 2018. Estos pacientes tuvieron predominio de manifestaciones inflamatorias *versus* las infecciosas; su frecuencia fue similar en comparación con los pacientes con EGC por deficiencia de p22<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup>, p67<sup>phox</sup> y gp91<sup>phox</sup>. Se plantea que ROS intracelulares participan en la regulación de las vías inflamatorias. Las lesiones inflamatorias en la deficiencia de p40<sup>phox</sup> son más frecuentes en piel y tracto gastrointestinal, entre ellas están las lesiones dérmicas similares a lupus o lupus discoide, úlceras orales, periodontitis, gingivitis, abscesos/granulomas gastrointestinales, esofagitis, gastritis, enfermedad de Crohn o abscesos/fistulas perianales. Por otro lado, las infecciones en la deficiencia de p40<sup>phox</sup> son menos invasivas y letales en comparación a los pacientes con EGC con deficiencia de p22<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup>, p67<sup>phox</sup> y gp91<sup>phox</sup>. En el 2019, Wright *et al.* reportaron un paciente con enfermedad inflamatoria intestinal de inicio temprano con manifestaciones graves, quien requirió hemicolectomía y no tuvo respuesta terapéutica a infliximab. A través de una secuenciación de nueva generación se evidenció la deficiencia de la subunidad p40<sup>phox</sup>.<sup>32,33,34</sup>

En ratones p40<sup>phox</sup><sup>-/-</sup> con colitis inducida se demostró que los neutrófilos no eliminan eficientemente los microorganismos, además de tener una falta de resolución de la inflamación p40<sup>phox</sup> dependiente.<sup>35</sup>

El diagnóstico de deficiencia de p40<sup>phox</sup> se realiza con ensayos como 1,2,3 dihidrorrodamina o nitroazul de tetrazolio, pero con la particularidad del uso de estímulos como zimósán o estafilococo opsonizados, ya que usando forbol miristato acetato la producción de ROS es normal.<sup>1,32</sup>

En 2018 se describió otra etiología genética de EGC, la deficiencia de Eros. Una característica importante de esta variedad de EGC es que, al igual que la deficiencia de p40<sup>phox</sup>, el desarrollo de las manifestaciones clínicas es más tardía y los síntomas inflamatorios predominan sobre los infecciosos.<sup>36,37</sup> En 2019, Dinauer acuñó los términos EGC clásica para las deficiencias de gp91<sup>phox</sup>, p22<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup> y p67<sup>phox</sup> y “no clásica” para las deficiencias de p40<sup>phox</sup> y Eros; esto con el fin de resaltar las diferencias fenotípicas en cuanto a la presentación de la inflamación.<sup>2,38</sup>

#### Alteraciones en el perfil de citocinas secundarias a la deficiencia del complejo de la NADPH oxidasa

El perfil inflamatorio de las citocinas en la EGC ha sido evidenciado en diversas investigaciones. Se ha demostrado que los monocitos *in vitro* de pacientes y de ratones con EGC tienen un estado inflamatorio incrementado caracterizado por niveles elevados de interleucina (IL) 1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , IL-17A, IL-23, G-CSF y niveles bajos IL-10. La hiperinflamación se ha observado en condiciones basales y ante diferentes estímulos infecciosos y no infecciosos (figura 1).<sup>21</sup>

Se ha descrito que ROS, a través de regulación redox, participan en la plasticidad de las células linfoides innatas. En la EGC la mayor producción de IL-1 $\beta$  favorece la diferenciación de Tbet+ILC1s a ROR $\gamma$ +ILC3s, lo cual puede contribuir a la iniciación y perpetuación del perfil de inflamatorio.<sup>39</sup>

El incremento de los linfocitos TH17 se ha encontrado ligado a la patogénesis de las enfermedades autoinmunes. Se cree que los niveles elevados de linfocitos TH17 e IL-17, IL-21 e IL-23 en EGC podrían participar en la génesis de las enfermedades autoinmunes.<sup>40</sup>

En ausencia de NOX2 en monocitos y neutrófilos, se afectan diferentes vías de señalización celular sensibles a una regulación redox.<sup>2,8</sup> Kobayashi *et al.*

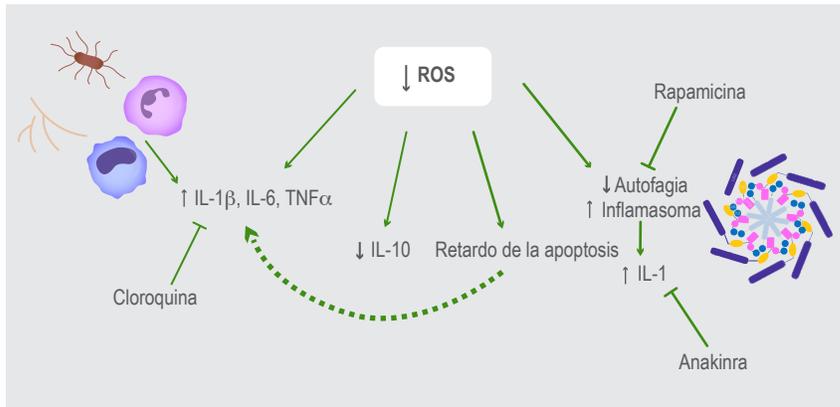


Figura 1. La ausencia de especies reactivas de oxígeno en la enfermedad granulomatosa crónica lleva a incremento de las citocinas inflamatorias y disminución de las citocinas antiinflamatorias, tanto en estado basal como posterior a estímulos infecciosos bacterianos y fúngicos. Algunas de las alteraciones que se han descrito son disminución de la autofagia, incremento de la actividad del inflammasoma y apoptosis disminuida. Algunos medicamentos bloquean algunas de estas vías alteradas.

demonstraron en pacientes con EGC LX que los neutrófilos en estado basal tienen un aumento de la expresión de los genes que codifican proteínas proinflamatorias, una disminución de genes que codifican para proteínas antiinflamatorias y una disminución de los genes que regulan la apoptosis. Esta investigación pionera sugirió que el perfil inflamatorio incrementado y la apoptosis defectuosa disminuyen la resolución del proceso inflamatorio y favorecen la formación de granulomas.<sup>41</sup>

Peterson *et al.* demostraron que al inocular hifas estériles de *Aspergillus fumigatus* en la piel de ratones con EGC LX, se observó inflamación excesiva con predominio de neutrófilos e incremento significativo de IL-1b, IL-6 y TNF $\alpha$ .<sup>42</sup> Otros investigadores demostraron que al inocular hifas estériles de *Aspergillus fumigatus* y lipopolisacáridos por vía traqueal, los ratones con EGC presentaron una mayor lesión pulmonar por mayor número de células inflamatorias y citocinas proinflamatorias. Ambos estudios evidenciaron que la inflamación en la EGC se puede iniciar sin una infección.<sup>43,44</sup>

Se ha demostrado *in vitro* una respuesta inflamatoria excesiva ante estímulos tanto bacterianos como fúngicos en células mononucleares de pacientes con EGC.<sup>43,44,45</sup> Particularmente, los monocitos presentan una respuesta inflamatoria excesiva frente a hongos y los neutrófilos frente a bacterias.<sup>46</sup> Por

otro lado, la respuesta inflamatoria (producción de IL-1 $\alpha$  y TNF $\alpha$ ) en monocitos es mayor ante polisacáridos de *Aspergillus nidulans* versus los de *Aspergillus fumigatus*, lo cual correlaciona con el desenlace fatal de pacientes con EGC infectados con *Aspergillus nidulans*. La mayor mortalidad descrita en EGC con ciertos patógenos está asociada a la capacidad de estos de generar una respuesta inflamatoria sistémica descontrolada.<sup>47</sup>

Estudios *in vitro* en monocitos de pacientes con EGC han demostrado el efecto fungicida de la cloroquina hacia *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus nidulans*, además de que inhibe la liberación de TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  inducida por estos hongos. La cloroquina, al ser fungicida e inhibir la producción de citocinas inflamatorias, podría ser de utilidad como coadyuvante en la aspergilosis invasiva en pacientes con EGC<sup>30</sup> (figura 1).

Aun cuando en EGC el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas se realice con donadores relacionados compatibles, se ha descrito un menor éxito asociado al quimerismo bajo de células del donador, la enfermedad injerto contra huésped o el rechazo al trasplante. Además, en la terapia génica (un trasplante autólogo genéticamente modificado) se ha observado que existe falta de injerto a largo plazo. Weisser *et al.* demostraron en estudios *in vitro* en células de ratones y humanos con EGC, un

incrementó de IL-1 $\beta$  y otras citocinas inflamatorias, lo cual produce una alteración cuantitativa y cualitativa en las células progenitoras hematopoyéticas y conduce a la falta de éxito en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y la terapia génica.<sup>48</sup>

### Deficiencia del complejo de la NADPH oxidasa y alteraciones en el control de la transcripción nuclear

Las ROS participan en la regulación de diferentes factores de transcripción través de la oxidación de la cisteína en los sitios catalíticos de las enzimas asociadas o al oxidar directamente los factores de transcripción.<sup>5,49</sup> La falta de las ROS en EGC alterará las modificaciones redox y, por lo tanto, la regulación de los factores de transcripción. En modelos de ratones con EGC, la actividad de NF- $\kappa$ B está discretamente incrementada de forma basal y excesivamente elevada ante estímulos como lipopolisacárido. También se ha demostrado una menor actividad de Ref-1, lo cual incrementa la afinidad de NF- $\kappa$ B por el ADN y por lo tanto su mayor actividad de transcripción.<sup>44</sup>

Deffert *et al.* hicieron un rescate génico en ratones con EGC con una variante patogénica en el gen *Ncf1* en mononucleares CD68+. Reconstituyeron así la producción de las ROS en los monocitos, pero no en los neutrófilos, y se observó una abolición de diferentes parámetros inflamatorios que se presentan en estos ratones con EGC.<sup>50</sup> Estos hallazgos demuestran que la pérdida de la función de NOX2 en los macrófagos y monocitos es la responsable de la respuesta inflamatoria que se observa de forma anormal en los ratones con deficiencia de las ROS.<sup>50</sup>

### Deficiencia del complejo de la NADPH oxidasa y alteraciones en inflamósoma y la autofagia

La autofagia es un término general para definir la degradación de diferentes componentes en el lisosoma. Está descrito que la formación de ROS es necesaria para el reclutamiento de LC3 (complejo proteico necesario para la correcta función del autofagosoma). La autofagia es necesaria para la regulación de la transcripción de IL-1 $\beta$  y el procesamiento de pro-IL-1 $\beta$ . Los defectos en la autofagia producen un aumento en la secreción de IL-1 $\beta$ . Los pacientes con EGC tienen autofagia defectuosa que lleva a un aumento de la actividad del inflamósoma, evidenciado por el aumento de IL-1 $\beta$  y de caspasa-1. El bloqueo del receptor de

IL-1R con anakinra en monocitos *in vitro* pacientes con EGC restaura la autofagia y en consecuencia la actividad del inflamósoma (figura 1).<sup>51,52</sup>

Estudios *in vitro* en monocitos de pacientes con EGC demostraron que anakinra junto con la rapamicina (potente inductor de la autofagia) disminuyen la activación del inflamósoma y perfil inflamatorio de citocinas inflamatorias. Con base a lo anterior, la rapamicina se propone como terapia en los pacientes con EGC con manifestaciones inflamatorias dependientes de esteroides (figura 1).<sup>29</sup>

### Deficiencia del complejo de la NADPH oxidasa y de la apoptosis

La regulación de la apoptosis de neutrófilos es esencial para la resolución de la inflamación y la prevención de la liberación de sus mediadores tóxicos hacia los tejidos. La apoptosis de los neutrófilos ocurre espontáneamente en sitios de inflamación; adicionalmente, los macrófagos expresan ligandos del receptor de muerte (TNF $\alpha$  y Fas ligando) que pueden inducir la apoptosis de los neutrófilos. La eferocitosis es el proceso a través de la cual los macrófagos reconocen e ingieren neutrófilos apoptóticos. La eferocitosis desencadena la activación de macrófagos tipo M2 asociados a la producción de IL-4, resolución de la inflamación y reparación del daño tisular. La eferocitosis lleva a respuestas antiinflamatorias, incluyendo la producción de prostaglandina E2, IL-10 y TGF- $\beta$  por los macrófagos y la supresión del eje IL-23/IL-17 que direcciona el reclutamiento de neutrófilos.<sup>8</sup>

La NADPH oxidasa estimula la apoptosis de neutrófilos después de la fagocitosis con partículas opsonizadas.<sup>53</sup> Los neutrófilos carentes del complejo de la NADPH oxidasa de pacientes con EGC son resistentes a la apoptosis espontánea *in vitro*. El retardo de la apoptosis de neutrófilos en tejidos prolonga la liberación de mediadores inflamatorios y perpetúa la inflamación. También durante la fagocitosis de residuos apoptóticos, los macrófagos de pacientes con EGC tienen una producción deficiente de prostaglandina D2 y TGF- $\beta$ , lo cual contribuye a la inflamación.<sup>54</sup> Los macrófagos M2 que participan en la eferocitosis requieren del receptor PPAR $\gamma$  para su programación hacia M2. En un estudio realizado en macrófagos de pacientes con EGC se demostró que hay disminución del receptor PPAR $\gamma$ , en consecuencia, disminución de los macrófagos M2 y de la eferocitosis. Dado que

las ROS son ligandos de PPAR $\gamma$ , se postula que en ausencia de las ROS en EGC no hay activación de PPAR $\gamma$ ; en consecuencia, se produce disminución de macrófagos M2 y de la eferocitosis. La disminución en el aclaramiento de los neutrófilos apoptóticos libera componentes intracelulares que generan inflamación y podrían favorecer la autoinmunidad observada en la EGC<sup>55</sup> (figura 1).

### Conclusión

La EGC ha sido una oportunidad para estudiar la función de las especies reactivas de oxígeno (ROS) en el sistema inmune innato. La ausencia de ROS producidas por la NADPH oxidasa en los neutrófilos y en los macrófagos genera manifestaciones inflamatorias y

autoinmunes; sin embargo, no es del todo clara la relación de causalidad entre la falta de ROS y los síntomas inflamatorios. Los ensayos *in vitro* en humanos muestran que las ROS reaccionan con diferentes moléculas del sistema inmunitario inhibiendo o estimulando su función, lo que explica que en la EGC se afecten varias vías de la inflamación, como por ejemplo una mayor producción de citocinas proinflamatorias, un incremento en los linfocitos TH17 y una alteración en procesos como eferocitosis, apoptosis, autofagia e inflammasoma. El entendimiento de los mecanismos que conducen a la inflamación en la deficiencia del complejo de la NADPH oxidasa ha llevado a plantear nuevos tratamientos que actúan en procesos como la autofagia o el inflammasoma.

---

### Referencias

1. Dahlgren C, Karlsson A, Bylund J. Intracellular neutrophil oxidants: from laboratory curiosity to clinical reality. *J Immunol.* 2019;202(11):3127-3134. DOI: 10.4049/jimmunol.1900235
2. Dinayer MC. Inflammatory consequences of inherited disorders affecting neutrophil function. *Blood.* 2019;133(20):2130-2139. DOI: 10.1182/blood-2018-11-844563
3. Buvelot H, Jaquet V, Krause KH. Mammalian NADPH oxidases. *Methods Mol Biol.* 2019;1982:17-36. DOI: 10.1007/978-1-4939-9424-3\_2
4. Bustamante J, Arias AA, Vogt G, Picard C, Blancas-Galicia L, Prando C, et al. Germline CYBB mutations that selectively affect macrophages in kindreds with X-linked predisposition to tuberculous mycobacterial disease. *Nat Immunol.* 2011;12(3):213-221. DOI: 10.1038/ni.1992
5. Lambeth JD, Neish AS. Nox enzymes and new thinking on reactive oxygen: a double-edged sword revisited. *Annu Rev Pathol.* 2014;9:119-145. DOI: 10.1146/annurev-pathol-012513-104651
6. Koga H, Terasawa H, Nuno H, Takeshige K, Inagaki F, Sumimoto H. Tetratricopeptide repeat (TPR) motifs of p67(phox) participate in interaction with the small GTPase Rac and activation of the phagocyte NADPH oxidase. *J Biol Chem.* 1999;274(35):25051-2560. DOI: 10.1074/jbc.274.35.25051
7. Magnani F, Mattevi A. Structure and mechanisms of ROS generation by NADPH oxidases. *Curr Opin Struct Biol.* 2019;59:91-97. DOI: 10.1016/j.sbi.2019.03.001
8. Singel KL, Segal BH. NOX2-dependent regulation of inflammation. *Clin Sci (Lond).* 2016;130(7):479-490. DOI: 10.1042/CS20150660
9. Buck A, Sanchez-Klose FP, Venkatakrisnan V, Khamzeh A, Dahlgren C, Bylund J, et al. DPI selectively inhibits intracellular NADPH oxidase activity in human neutrophils. *Immunohorizons.* 2019;3(10):488-497. DOI: 10.4049/immunohorizons.1900062
10. Reshetnikov V, Hahn J, Maueroder C, Czegley C, Muñoz LE, Herrmann M, et al. Chemical tools for targeted amplification of reactive oxygen species in neutrophils. *Front Immunol.* 2018;9:1827. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01827
11. Blancas-Galicia L, Santos-Chavez E, Deswarte C, Mignac Q, Medina-Vera I, León-Lara X, et al. Genetic, immunological, and clinical features of the first Mexican cohort of patients with chronic granulomatous disease. *J Clin Immunol.* 2020;40(3):475-493. DOI: 10.1007/s10875-020-00750-5
12. Rosenbaum BE, Shenoy R, Vuppula S, Thomas K, Moy L, Kaul A. Colitis as the sole initial presentation of chronic granulomatous disease: histopathologic clues to diagnosis. *Pediatr Infect Dis J.* 2016;35(11):1229-1231. DOI: 10.1097/INF.0000000000001284

13. Magnani A, Brosselin P, Beaute J, de Vergnes N, Mouy R, Debré M, et al. Inflammatory manifestations in a single-center cohort of patients with chronic granulomatous disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;134(3):655-662. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.04.014
14. Rosenzweig SD. Inflammatory manifestations in chronic granulomatous disease (CGD). *J Clin Immunol.* 2008;28(Suppl 1):S67-S72. DOI: 10.1007/s10875-007-9160-5
15. Goldblatt D. Recent advances in chronic granulomatous disease. *J Infect.* 2014;69(Suppl 1):S32-S35. DOI: 10.1016/j.jinf.2014.07.013
16. Holland SM. Chronic granulomatous disease. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2010;38(1):3-10. DOI: 10.1007/s12016-009-8136-z
17. Winkelstein JA, Marino MC, Johnston RB, Boyle J, Curnette J, Gallin JI, et al. Chronic granulomatous disease. Report on a national registry of 368 patients. *Medicine (Baltimore).* 2000;79(3):155-169. DOI: 10.1097/00005792-200005000-00003
18. Arnold DE, Heimall JR. A review of chronic granulomatous disease. *Adv Ther.* 2017;34(12):2543-2557. DOI: 10.1007/s12325-017-0636-2
19. De Ravin SS, Naumann N, Cowen EW, Friend J, Hilligoss D, Marquesen M, et al. Chronic granulomatous disease as a risk factor for autoimmune disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;122(6):1097-1103. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.07.050
20. Leiding JW, Holland SM. Chronic granulomatous disease. En: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, editores. *GeneReviews®*. EE. UU.: University of Washington; 1993.
21. Thomas DC. How the phagocyte NADPH oxidase regulates innate immunity. *Free Radic Biol Med.* 2018;125:44-52. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.06.011
22. López-Hernández I, Guzmán-Martínez MN, Medina-Vera I, et al. Clinical manifestations in carriers of X-linked chronic granulomatous disease in Mexico. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2019;29(2):134-136. DOI: 10.18176/jiaci.0343
23. Gennery AR, Albert MH, Slatter MA, Lankester A. Hematopoietic stem cell transplantation for primary immunodeficiencies. *Front Pediatr.* 2019;7:445. DOI: 10.3389/fped.2019.00445
24. Álvarez-Cardona A, Rodríguez-Lozano AL, Blancas-Galicia L, Rivas-Larrauri FE, Yamazaki-Nakashimada MA. Intravenous immunoglobulin treatment for macrophage activation syndrome complicating chronic granulomatous disease. *J Clin Immunol.* 2012;32(2):207-211. DOI: 10.1007/s10875-011-9616-5
25. Kuijpers T, Lutter R. Inflammation and repeated infections in CGD: two sides of a coin. *Cell Mol Life Sci.* 2012;69(1):7-15. DOI: 10.1007/s00018-011-0834-z
26. Freeman AF, Marciano BE, Anderson VL, Uzel G, Costas C, Holland SM. Corticosteroids in the treatment of severe nocardia pneumonia in chronic granulomatous disease. *Pediatr Infect Dis J.* 2011;30(9):806-808. DOI: 10.1097/INF.0b013e318218181d
27. Venegas-Montoya E, Sorcia-Ramírez G, Scheffler-Mendoza S, Blancas-Galicia L, Bustamante J, Espinosa-Rosales F, et al. Use of corticosteroids as an alternative to surgical treatment for liver abscesses in chronic granulomatous disease. *Pediatr Blood Cancer.* 2016;63(12):2254-2255. DOI: 10.1002/pbc.26140
28. Noel N, Mahlaoui N, Blanche S, Suárez F, Durieu I, Sokol H, et al. Efficacy and safety of thalidomide in patients with inflammatory manifestations of chronic granulomatous disease: a retrospective case series. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132(4):997-1000. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.04.059
29. Gabrion A, Hmitou I, Moshous D, Neven B, Surez F, Picard C, et al. Mammalian target of rapamycin inhibition counterbalances the inflammatory status of immune cells in patients with chronic granulomatous disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;139(5):1641-1649. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.08.033
30. Henriët SS, Jans J, Simonetti E, Kwon-Chung KJ, Hermans PWM, Warris A, et al. Chloroquine modulates the fungal immune response in phagocytic cells from patients with chronic granulomatous disease. *J Infect Dis.* 2013;207(12):1932-1939. DOI: 10.1093/infdis/jit103
31. Hui X, Liu D, Wang W, Hou J, Ying W, Zhou Q, et al. Low-dose Pioglitazone does not increase ROS production in chronic granulomatous disease patients with severe infection. *J Clin Immunol.* 2020;40(1):131-137. DOI: 10.1007/s10875-019-00719-z

32. Van de Geer A, Nieto-Patlan A, Kuhns DB, Tool AT, Arias AA, de Boer M, et al. Inherited p40phox deficiency differs from classic chronic granulomatous disease. *J Clin Invest.* 2018;128(9):3957-375. DOI: 10.1172/JCI97116
33. Matute JD, Arias AA, Wright NA, Wrobel I, Li XJ, Marchal CC, et al. A new genetic subgroup of chronic granulomatous disease with autosomal recessive mutations in p40 phox and selective defects in neutrophil NADPH oxidase activity. *Blood.* 2009;114(15):3309-3315. DOI: 10.1182/blood-2009-07-231498
34. Wright M, Chandrakasan S, Okou DT, Yin H, Jurickova I, Denson LA, et al. Early onset granulomatous colitis associated with a mutation in NCF4 resolved with hematopoietic stem cell transplantation. *J Pediatr.* 2019;210:220-225. DOI: 10.1016/j.jpeds.2019.03.042
35. Conway KL, Goel G, Sokol H, Manocha M, Bhan AK, Xavier RJ, et al. p40phox expression regulates neutrophil recruitment and function during the resolution phase of intestinal inflammation. *J Immunol.* 2012;189(7):3631-3640. DOI: 10.4049/jimmunol.1103746
36. Thomas DC, Charbonnier LM, Schejtman A, Coomber EL, Dufficy ER, Beenken AE, et al. EROS/CYBC1 mutations: Decreased NADPH oxidase function and chronic granulomatous disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2019;143(2):782-785. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.09.019
37. Arnadottir GA, Norddahl GL, Gudmundsdottir S, Sigurdsson S, Jensson BO, Theodors F, et al. A homozygous loss-of-function mutation leading to CYBC1 deficiency causes chronic granulomatous disease. *Nat Commun.* 2018;9(1):4447. DOI: 10.1038/s41467-018-06964-x
38. Dinauer MC. Neutrophil defects and diagnosis disorders of neutrophil function: an overview. *Methods Mol Biol.* 2020;2087:11-29. DOI: 10.1007/978-1-0716-0154-9\_2
39. Chan TY, Yen CL, Huang YF, Lo PC, Nigrovic PA, Cheng CY, et al. Increased ILC3s associated with higher levels of IL-1beta aggravates inflammatory arthritis in mice lacking phagocytic NADPH oxidase. *Eur J Immunol.* 2019;49(11):2063-2073. DOI: 10.1002/eji.201948141
40. Horváth R, Rožková D, Laštovička J, Poloučková A, Sedláček A, Sedivá A, et al. Expansion of T helper type 17 lymphocytes in patients with chronic granulomatous disease. *Clin Exp Immunol.* 2011;166(1):26-33. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04449.x
41. Kobayashi SD, Voyich JM, Braughton KR, Whitney AR, Nauseef WM, et al. Gene expression profiling provides insight into the pathophysiology of chronic granulomatous disease. *J Immunol.* 2004;172(1):636-643. DOI: 10.4049/jimmunol.172.1.636
42. Petersen JE, Hiran TS, Goebel WS, Johnson C, Murphy RC, Azmi FH, et al. Enhanced cutaneous inflammatory reactions to *Aspergillus fumigatus* in a murine model of chronic granulomatous disease. *J Invest Dermatol.* 2002;118(3):424-429.
43. Morgenstern DE, Gifford MA, Li LL, Doerschuk CM, Dinauer MC. Absence of respiratory burst in X-linked chronic granulomatous disease mice leads to abnormalities in both host defense and inflammatory response to *Aspergillus fumigatus*. *J Exp Med.* 1997;185(2):207-218. DOI: 10.1084/jem.185.2.207
44. Han W, Li H, Cai J, Gleaves LA, Polosukhin VV, Segal BH, et al. NADPH oxidase limits lipopolysaccharide-induced lung inflammation and injury in mice through reduction-oxidation regulation of NF- $\kappa$ B activity. *J Immunol.* 2013;190(9):4786-4794. DOI: 10.4049/jimmunol.1201809
45. Bylund J, MacDonald KL, Brown KL, Mydel P, Collins VL, Hancock REW, et al. Enhanced inflammatory responses of chronic granulomatous disease leukocytes involve ROS-independent activation of NF- $\kappa$ B. *Eur J Immunol.* 2007;37(4):1087-1096. DOI: 10.1002/eji.200636651
46. Gazendam RP, van de Geer A, van Hamme JL, Helgers L, Rohr J, Picard C, et al. Proinflammatory cytokine response toward fungi but not bacteria in chronic granulomatous disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;138(3):928-930. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.03.035
47. Henriët SS, van de Sande WW, Lee MJ, Simonetti E, Momany M, Verwij PE, et al. Decreased cell wall galactosaminogalactan in *aspergillus nidulans* mediates dysregulated inflammation in the chronic granulomatous disease host. *J Interferon Cytokine Res.* 2016;36(8):488-498. DOI: 10.1089/jir.2015.0095
48. Weisser M, Demel UM, Stein S, Touzot F, Santilli G, Sujer S, et al. Hyperinflammation in patients with chronic granulomatous disease leads to impairment of hematopoietic stem cell functions. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;138(1):219-228. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.11.028

49. Morgan MJ, Liu ZG. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- $\kappa$ B signaling. *Cell Res.* 2011;21(1):103-115. DOI: 10.1038/cr.2010.178
50. Deffert C, Carnesecchi S, Yuan H, Rougemont AL, et al. Hyperinflammation of chronic granulomatous disease is abolished by NOX2 reconstitution in macrophages and dendritic cells. *J Pathol.* 2012;228(3):341-350. DOI: 10.1002/path.4061
51. De Luca A, Smeekens SP, Casagrande A, Conway KL, Begun J, Begun J, et al. IL-1 receptor blockade restores autophagy and reduces inflammation in chronic granulomatous disease in mice and in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(9):3526-3531. DOI: 10.1073/pnas.1322831111
52. Meissner F, Seger RA, Moshous D, Fischer A, Reichenbach J, Zychlinsky A. Inflammasome activation in NADPH oxidase defective mononuclear phagocytes from patients with chronic granulomatous disease. *Blood.* 2010;116(9):1570-1573. DOI: 10.1182/blood-2010-01-264218
53. Zeng MY, Miralda I, Armstrong CL, Uriarte SM, Bagaitkar J. The roles of NADPH oxidase in modulating neutrophil effector responses. *Mol Oral Microbiol.* 2019(2);34:27-38. DOI: 10.1111/omi.12252
54. Brown JR, Goldblatt D, Buddle J, Morton L, Thrasher AJ. Diminished production of anti-inflammatory mediators during neutrophil apoptosis and macrophage phagocytosis in chronic granulomatous disease (CGD). *J Leukoc Biol.* 2003;73(5):591-599. DOI: 10.1189/jlb.1202599
55. Fernández-Boyanapalli R, Frasc SC, Riches DW, Vandivier RW, Henson PM, Bratton DL. PPAR $\gamma$  activation normalizes resolution of acute sterile inflammation in murine chronic granulomatous disease. *Blood.* 2010;116(22):4512-4522. DOI: 10.1182/blood-2010-02-272005