

MECANISMOS EFECTORES DE LAS CÉLULAS FAGOCÍTICAS MONONUCLEARES

Sara María Robledo Restrepo
Universidad de Antioquia

Abreviaturas usadas en este capítulo

Ac:	Anticuerpos	LPS:	Lipolisacárido
ADCC:	Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos	LT:	Linfocito T
Ag:	Antígenos	MARCO:	Receptor de macrófagos en estructura de colágeno
CPA:	Células presentadoras de antígeno	M-CSF:	Factor estimulador de colonias de monocitos
CR:	Receptores de proteínas del complemento	MDF:	Factor desactivador de macrófagos
CSF:	Factor estimulador de colonias	MIP:	Proteína inhibitoria del macrófago
DAG:	Diacil glicerol	NF-κB:	Factor nuclear asociado a la cadena kappa de células B
FcR:	Receptores de la fracción Fc de las inmunoglobulinas	NK:	Asesinas naturales
FGF:	Factor de crecimiento de fibroblastos	ON:	Oxido nítrico
G-CSF:	Factor estimulador de colonias de granulocitos	PAF:	Factor activador de la proliferación
GM-CSF:	Factor estimulador de colonias de granulocitos y monocitos	PAMP:	Patrones moleculares asociados a patógenos
HDL:	Lipoproteína de alta densidad	PDGF:	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
ICAM:	Molécula de adhesión intercelular	PIP₂:	Fosfoinositol bifosfato
IFN:	Interferón	PKC:	Proteína quinasa C
IL:	Interleuquina	PLA:	Fosfolipasa A
iNOS:	Óxido nítrico sintasa inducible	PLC:	Fosfolipasa C
IRF:	Factor de respuesta a la insulina	SMF:	Sistema mononuclear fagocítico
JAK:	Janus quinasa	SR:	Receptores depuradores
LB:	Linfocito B	SRE:	Sistema reticulo-endotelial
LBP:	Proteína de unión al LPS	TGF:	Factor transformante del crecimiento
LDL:	Lipoproteína de baja densidad	TLR:	Receptores tipo Toll
LFA:	Antígeno asociado a la función leucocitaria	TNF:	Factor de necrosis tumoral
		VCAM:	molécula de adhesión a la célula vascular

INTRODUCCIÓN

Las células mononucleares fagocíticas representan una familia de células muy heterogénea tanto en fenotipo como en función, que se agrupan dentro del denominado "Sistema Mononuclear Fagocítico". El SMF incluye células de origen hematopoyético, derivadas de una célula precursora común de tipo mieloide y que tienen como función principal la fagocitosis. A este sistema pertenecen los monocitos, los macrófagos y las células dendríticas; sin embargo, los monocitos y los macrófagos constituyen las células básicas y fundamentales del SMF y es a ellas a las que nos vamos a referir en más detalle, a lo largo de este capítulo.

Los monocitos se encuentran en circulación y los macrófagos se encuentran ampliamente distribuidos en diferentes órganos y tejidos del organismo incluyendo órganos linfoides, hígado, pulmones, tracto gastrointestinal y sistema nervioso central. Se caracterizan por propiedades morfológicas y funcionales particulares: poseen, por ejemplo, capacidad de fagocitar células, partículas y/o material soluble; tienen una vida media relativamente larga, capacidad para adaptarse en respuesta a estímulos antigénicos y microbianos, capacidad para participar en la homeostasis, regulando la respuesta local y sistémica a través de diversos receptores de membrana y de productos secretados, y capacidad para influir en el crecimiento, diferenciación y muerte de otras células al reconocer y fagocitar células seniles y anormales. Por sus características, los monocitos y macrófagos contribuyen, sustancialmente, no solo al reconocimiento y defensa innata contra microorganismos patógenos intra y extracelulares y otros Ag, sino que complementan y regulan la respuesta inmune adquirida mediada por células y por Acs al interactuar con los LT y LB directamente y/o por intermedio de citoquinas

EL SISTEMA MONONUCLEAR FAGOCÍTICO

Componentes del Sistema Mononuclear Fagocítico

Originalmente los monocitos y macrófagos se clasificaron, junto con los fibroblastos y con las células endoteliales y reticulares de diferentes órganos, como células del SRE. Dicha clasificación se basaba en la asociación estructural de estas células, sin tener en cuenta su origen o función. En 1972 Van Furth y colaboradores propusieron la clasificación de los monocitos y macrófagos en un nuevo sistema denominado "Sistema Mononuclear Fagocítico" que agrupa las células que poseen un origen hematopoyético común y cuya principal función es la fagocitosis. Como se mencionó anteriormente, a este sistema también pertenecen las células dendríticas que incluyen las células de Langerhans, células interdigitantes y las células dendríticas foliculares. La principal función de estas células dendríticas es la inducción de la respuesta inmune mediada por LT contra Ag proteicos.

Origen y desarrollo de las células mononucleares fagocíticas de la línea monocitos/macrófagos

Los monocitos y macrófagos, al igual que todas las células hematopoyéticas, se originan en médula ósea a partir de una célula madre pluri-potencial que se caracteriza por su alta capacidad de división; estas células dan origen a células precursoras inmaduras con alta capacidad de maduración y diferenciación. Los monocitos y macrófagos, durante su desarrollo, adquieren varias características típicas, como son: morfología distintiva, presencia de determinadas enzimas, expresión en membrana de dife-

rentes moléculas, algunas de las cuales actúan como receptores, y capacidad de realizar fagocitosis y pinocitosis.

El desarrollo de las células mononucleares fagocíticas es un proceso que consiste en los siguientes pasos: *proliferación, maduración, diferenciación* de células progenitoras y *activación funcional*, principalmente de células maduras. Se entiende por *proliferación* el proceso de multiplicación de las células, para dar origen a células hijas

que expresan características similares a las que poseen las células parentales; *maduración* es el proceso por el cual las células adquieren las características típicas que poseen las células en los estadios tardíos del desarrollo, en la medida que pierden las características de las células de estadios más tempranos; la *diferenciación* es el proceso por el cual se adquieren características específicas de determinada población celular generándose así la diversidad. De otro lado, la *activación* es el proceso por el cual las células adquieren y expresan determinadas

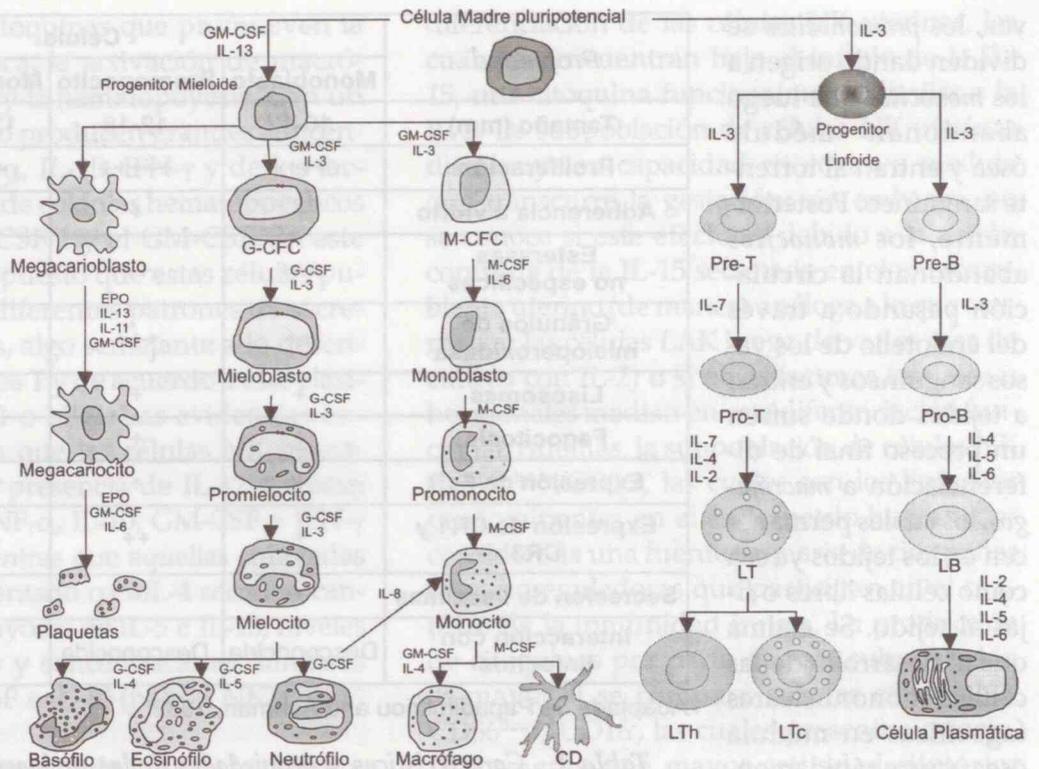


Figura 1. Origen y desarrollo de las células del sistema inmune. Representación esquemática de la hematopoyesis. Todas las células del sistema inmune se desarrollan y maduran en médula ósea con excepción de las células T que se desarrollan en médula ósea pero maduran en el timo. Las diferentes poblaciones de células precursoras son capaces de renovarse y proliferar pero las células en estadio avanzado de maduración solo son capaces de diferenciarse. Al lado de cada flecha, se indican las citoquinas que son necesarias para el crecimiento, maduración y diferenciación de cada una de las poblaciones celulares. G-CFC: célula formadora de colonias de granulocitos; M-CFC: célula formadora de colonias de monocitos/macrófagos.

funciones particulares o aumentan las funciones previamente adquiridas.

El desarrollo en la médula ósea incluye el paso de los monocitos/macrófagos por los siguientes estadios: célula madre pluripotencial o "stem cell", célula precursora de tipo mielóide, monoblasto, promonocito y monocito (Figura 1). La célula más inmadura presente en médula ósea, con características inequívocas de célula mononuclear fagocítica es el *monoblasto*, que se divide y da origen al *promonocito*. A su

vez, los *promonocitos* se dividen dando origen a los *monocitos* que luego abandonan médula ósea y entran al torrente sanguíneo. Posteriormente, los *monocitos* abandonan la circulación pasando a través del endotelio de los vasos sanguíneos y entran a tejidos donde sufren un proceso final de diferenciación a *macrófagos*, los cuales permanecen en los tejidos ya sea como células libres o fijas al tejido. Se estima que el desarrollo de las células mononucleares fagocíticas en médula ósea ocurre rápidamente (1.5 a 3 días), mientras que el tiempo de "generación" de los macrófagos a partir de monocitos es de aproximadamente 1 a 2 semanas. En la Tabla 1 se resumen las características principales que distinguen las células precursoras de los macrófagos.

Dependiendo del tejido donde se localizan, los macrófagos reciben diferentes nombres: *microglías* en tejido nervioso central, *células de Kupffer* en paredes vasculares de sinusoides hepáticos, *macrófagos alveolares* en los alvéolos pulmonares, *macrófagos intersticiales* en tejido pulmonar, *histiocitos* en tejido conectivo, *osteoclastos* en hueso y *células tipo A* en membrana sinovial. Adicionalmente, los macrófagos activados por diferentes estímulos pueden adquirir diferentes formas: *células epitelioides* cuando desarrollan abundante citoplasma o *células gigantes multinucleadas* cuando se fusionan entre sí varios macrófagos. Se ha sugerido que la renova-

Propiedad	Célula			
	Monoblasto	Promonocito	Monocito	Macrófago
Tamaño (mm)	10-12	12-18	12-15	20-80
Proliferación	++++	+++++	+++	±
Adherencia a vidrio	+	+	++	+++
Esterasas no específicas	+++	+++	+++	++
Gránulos de mieloperoxidasa	++	+++	++	-
Lisosomas	+	+	++	+++
Fagocitosis	±	±	+	++++
Expresión de FcR	+	+	++	+++
Expresión de CR1 y CR3	±	++	++	+++
Secreción de lisozimas	+	+	++	++
Interacción con linfocitos	Desconocida	Desconocida	++	++

Adaptada de Papadimitriou and Ashman, 1989

Tabla 1. Características y propiedades de las poblaciones de células mononucleares fagocíticas

ción de la población de macrófagos, en los diferentes órganos y tejidos, ocurre principalmente por el influjo de monocitos a los tejidos, los cuales se diferencian luego en macrófagos, y que existe un pequeño porcentaje de macrófagos tisulares que se divide localmente; sin embargo, otras evidencias sugieren que estas células en división corresponden a monocitos que han emigrado a tejidos antes de completar su división. Al parecer, estas células se dividen solamente una vez y la replicación de macrófagos en tejido normal o inflamado no ocurre u ocurre en niveles no significativos con muy baja frecuencia.

Los diferentes procesos que ocurren durante el desarrollo de los monocitos/macrófagos son controlados por una serie de interacciones celulares y de mediadores solubles, los cuales se resumen en la Tabla 2. La mayoría de estos me-

diadores son citoquinas que tienen actividad específica sobre las células del linaje monocítico, como es el caso de M-CSF, o son citoquinas que pueden tener efectos sobre otras células hematopoyéticas como la IL-3. En este proceso también participan otros compuestos de naturaleza química diferente, producidos en forma endógena o exógena como péptidos, hormonas esteroideas, polisacáridos, lípidos y microorganismos. En términos generales estos mediadores son multifuncionales, es decir, influyen en diferentes procesos del desarrollo. Por ejemplo, el M-CSF estimula células progenitoras de macrófagos para que proliferen, maduren y se diferencien, pero también estimula células maduras para que se activen. Por otro lado, factores como el CSF-1, GM-CSF, G-CSF e IL-3 aumentan la proliferación de macrófagos mientras que el IFN- α , IFN- β e IFN- γ la inhiben. Así mismo, el impacto de un factor determinado puede deberse a la acción primaria del mediador o a la inducción de estimulación autocrina involucrando otros factores; por ejemplo, células progenitoras, generadas en presencia de M-CSF, maduran más por la acción del IFN- β producido en forma endógena. Al parecer, el resultado de la acción de un mediador particular depende del estado de desarrollo en que se encuentre la célula respondedora; sin

Tipo de mediador	Factor ^b	Proceso
Citoquinas	M-CSF, GM-CSF, IL-3, IL-4, TNF- α , TNF β , IGF-I	Proliferación, maduración, diferenciación y activación
	IFN- γ , IFN- α , IFN- β , IL-2	Maduración, diferenciación y activación
	IL-1, IL-6, Epo, MIP-1 α , MIP-1 β , MIP-2, FIM	Proliferación
	G-CSF	Activación
	TGF- β , p15E, IL-10, MDF	Desactivación
Péptidos	Tuftsina, sustancia P, neurotensina	Proliferación, maduración, diferenciación y activación
	MDP	Activación
Hormonas esteroideas	Hidrocortisona y otros corticosteroides	Proliferación, maduración, diferenciación y activación
	1 α , 25-(OH) ₂ -VitD ₃	Maduración, diferenciación y activación
Polisacáridos	LPS	Activación
Lípidos	Lípido A	Activación
	PGE ₂	Desactivación

Adaptada de Leenen PJM, Campbell PA. Heterogeneity of mononuclear phagocytes. An Interpretative review. In: Macrophages and Related Cells. Blood Cell Biochemistry, Volume 5. Horton MA (ed). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 1993. 454 pp

^bM-CSF: Factor estimulador de Colonias de macrófagos; GM-CSF: Factor estimulador de Colonias de granulocitos y macrófagos; IL: Interleuquina; TNF: Factor de Necrosis Tumoral; IGF-I: Factor de crecimiento tipo insulina; IFN: Interferón; G-CSF: Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos; Epo: eritropoyetina; MIP: Proteína inflamatoria de macrófagos; FIM: Factor incrementador de monocitopoyesis; TGF: Factor de crecimiento y tumoración; MDF: Factor desactivador de macrófagos; MDP: muramil dipéptidos; LPS: lipopolisacárido; PGE₂: Prostaglandina E₂

Tabla 2. *Mediadores involucrados en el desarrollo de las células fagocíticas mononucleares*

embargo, hay que tener en cuenta que muchas otras vías reguladoras, que permanecen aún sin describir, pueden intervenir en el desarrollo de los monocitos y macrófagos.

Características fenotípicas de los monocitos/macrófagos

Las características particulares incluyen una morfología típica, la presencia de enzimas (esterasas inespecíficas, lisozimas y peroxidasa), la expresión de receptores en su membrana (FcR y CR) y la capacidad de fagocitar células,

partículas y/o material soluble sin opsonizar u opsonizados con Acs o fracciones de complemento. Sin embargo, las células varían ampliamente en lo relacionado con la expresión de estos y otros parámetros fenotípicos y funcionales. Muchas de estas características se pueden utilizar como marcadores para distinguir células en diferentes estadios de desarrollo y/o activación. Así por ejemplo, en el caso de los monocitos/macrófagos la proporción núcleo: citoplasma disminuye durante la maduración, siendo mayor que 1.0 para monoblastos y promonocitos, igual a 1.0 para monocitos y menor que 1.0 para macrófagos. Así mismo, el patrón de actividad de peroxidasa intracelular también depende del estadio de desarrollo en que se encuentre la célula; por ejemplo, en monoblastos y promonocitos se observa actividad de peroxidasa en membrana nuclear, gránulos, retículo endoplásmico y aparato de Golgi mientras que en monocitos la actividad de peroxidasa solo se observa en gránulos; en los macrófagos puede no observarse actividad de peroxidasa o evidenciarse dicha actividad en el retículo endoplásmico y en la membrana nuclear.

Estos ejemplos, permiten ilustrar el hecho que muchos aspectos fenotípicos de los monocitos/macrófagos cambian durante su desarrollo y por tanto se pueden utilizar como marcadores para determinados estadios. A continuación, se describen algunas de las características que comparten las células mononucleares fagocíticas de la línea monocitos/macrófagos y que permiten su clasificación dentro del SMF.

Morfología

Los monocitos y macrófagos son células de forma irregular, con un tamaño que varía entre 20 y 80 μm de diámetro. Poseen un núcleo grande vesicular, a veces en forma de riñón, localizado en el centro o en la periferia y posee un nucleolo prominente. El citoplasma es

abundante y contiene numerosas mitocondrias en forma de bastón y abundantes pinosomas y lisosomas. La superficie está caracterizada por la presencia de numerosos pseudópodos irregulares y pliegues, especialmente en la periferia.

Por microscopía electrónica de barrido se ha demostrado que la superficie de los macrófagos está cubierta por numerosos pliegues, lóbulos, espinas, microvellos y filopodios; con frecuencia se observan lamelipodios en la periferia, lo que refleja la gran movilidad que caracteriza estas células. Por su parte, la microscopía electrónica de transmisión ha permitido observar una membrana plasmática muy irregular, con abundantes invaginaciones y abundante material filamentoso; se observan también numerosas vesículas, vacuolas y acantosomas, especialmente en la periferia de la célula; poseen un aparato de Golgi bien desarrollado y rodeado por abundantes gránulos secretorios, vesículas y acantosomas; el retículo endotelial está más o menos bien desarrollado y se localiza alrededor del núcleo y cerca al aparato de Golgi; poseen además un número moderado de mitocondrias (localizadas cerca al retículo endoplásmico), polirribosomas y microfilamentos (localizados en la zona perinuclear muy cerca del aparato de Golgi). La mayoría de los gránulos secretorios son grandes, poco densos y se conocen como gránulos secundarios que contienen abundantes enzimas lisosomales; una menor cantidad de estos gránulos secretorios son pequeños, algunas veces alongados, su contenido es denso, poseen actividad peroxidasa y se conocen como gránulos primarios. El número y tipo de gránulos varía dependiendo de la localización anatómica y el grado de activación.

Los macrófagos poseen un citoesqueleto muy bien organizado; sus diferentes componentes forman un complejo tridimensional que rodea el núcleo y se extiende a la periferia; subyacente

a la membrana celular hay una fina red de microfilamentos de actina que son responsables de la formación de pliegues, de la locomoción y de la formación de pseudópodos y que también participan en los eventos que suceden durante la endocitosis. El ensamblaje de la actina es un proceso regulado por otras proteínas entre las cuales se incluyen la proteína unidora de actina y la α -actina que influyen en el entrecruzamiento de los filamentos de actina; la acumentina y la gelsolina que determinan su longitud; la profilina y la tropomiosina que estabilizan los polímeros de actina y la miosina que actúa mecánicamente sobre los filamentos de actina. Los microtúbulos también actúan sobre los filamentos de actina y juegan un papel importante en la organización de la pinocitosis, en procesos secretorios y en la estabilización del polo migratorio que se forma durante la quimiotaxis. Las proteínas que contribuyen a este sistema complejo del citoesqueleto representan aproximadamente el 15% de las proteínas celulares totales.

Enzimas intracelulares

En el citoplasma de los macrófagos se presenta una gran actividad enzimática debido a que allí se localizan varias enzimas involucradas en diferentes procesos metabólicos fisiológicos como glicólisis, ciclo de Krebs, gluconeogénesis, al igual que en procesos antimicrobianos como son la hidrólisis y la explosión respiratoria. Entre las enzimas más importantes están las hidrolasas ácidas lisosomales y otras hidrolasas, enzimas mitocondriales, oxidoreductasas, peroxidasas, esterases inespecíficas como la α -naftil acetil y α -naftil butiril esterasa, la fosfatasa ácida, la leucil aminopeptidasa, la β -galactosidasa, la catepsina D, la aril sulfatasa, la adenosina trifosfatasa, la fosfodiesterasa alcalina, la peroxidasa, la muramidasa y la 5' nucleotidasa (especialmente para macrófagos residentes). Algunas de estas actividades enzimáticas se uti-

lizan en la identificación de poblaciones de células del SMF, como es el caso de actividad peroxidasa que aumenta con la diferenciación de monocitos a macrófagos.

Productos secretados

Los macrófagos maduros se caracterizan por una capacidad secretora muy bien desarrollada, aunque no es claro aún si un mismo macrófago sintetiza y secreta todos los diferentes productos (Tabla 3). La mayoría de estos productos son secretados también por otras células; sin embargo, como los macrófagos son abundantes durante la respuesta inflamatoria, sus productos tienen un papel importante en muchos de los procesos inmunológicos, que ocurren localmente en respuesta a un estímulo antigénico. Los productos se pueden dividir, aunque de una forma simplista, en moléculas «efectoras» y moléculas «reguladoras». Las moléculas efectoras son aquellas que cumplen una función dentro de la respuesta inmune, como es el caso de los metabolitos intermediarios del oxígeno y del nitrógeno que son potentes compuestos microbicidas. Las moléculas «reguladoras» son aquellas que como su nombre lo indica, inducen o inhiben procesos o funciones de las células del sistema inmune como es el caso de la IL-12 que induce síntesis de IFN- γ por células NK y la diferenciación de linfocitos Th0 hacia Th1 productores de IFN- γ , la IL-10 que inhibe la producción de IL-12 ó la PGE₂ que inhibe macrófagos activados.

Antígenos de membrana

Los monocitos/macrófagos expresan en sus membranas abundantes Ag que además de cumplir importantes funciones inmunológicas, permiten identificar poblaciones y subpoblaciones de células y estados de diferenciación y/o activación, los cuales se resumen en el apéndice 2. Entre estos marcadores se incluyen mo-

léculas que se expresan en células inmaduras como CD33 que se expresa en células progenitoras de la línea mieloide, moléculas que se expresan en células maduras como CD14, CD32 y CD35 que son propios de monocitos, moléculas que se expresan en células diferenciadas como CD16 y CD23 que aparecen en macrófagos y moléculas que se expresan en macrófagos activados como CD69 y CD143. Sin embargo, aún no se ha encontrado un marcador que sea común para todas las poblaciones de monocitos/macrófagos.

Función de las células fagocíticas mononucleares

Entre las funciones que estas células realizan se destacan: 1) endocitosis de microorganismos, de células apoptóticas (seniles o deterioradas) y de detritos; 2) actividad citotóxica contra microorganismos y células tumorales; 3) regulación y participación en la respuesta inflamatoria; 4) regulación de la respuesta inmune, y 5) regulación de la hema-

Tipo producto	Producto ^b	Función en respuesta inmune
Enzimas	Hidrolasas ácidas: Glicosidasas, fosfatasas, ribonucleasas, desoxiribonucleasas, proteasas, lipasas, fosfolipasas, sulfatasas	Hidrólisis de proteínas, DNA, RNA, polisacáridos y lípidos
	Proteinasas neutras: colagenasas, elastasas, mielinasas, proteoglicanos, proteasas, proteinasas citolíticas, activador del plasminógeno	Degradación de proteínas de la matriz extracelular
	Lisozimas	Hidrólisis de carbohidratos
	Arginasas	Cataliza la hidrólisis de arginina o canavanina a L-ornitina y urea
	Lipoproteínas lipasas	Transporte de los lípidos de las lipoproteínas
	Angiotensinas convertasas	Control de presión sanguínea y homeostasis de líquidos y electrolitos
Proteínas plasmáticas	Proteínas de la coagulación (II, V, VII, IX y X), protrombinasa, tromboplastina tisular; inhibidor de la fibrinólisis.	Hemostasis y trombosis
	Componentes del Complemento (C1, C2, C3, C4, C5, inactivador de C3; Factores B, D, I, H, Properdina)	Inflamación, fagocitosis y lisis de microorganismos.
	Fibronectina, α -2 macroglobulina, Proteína amiloidea sérica A y P, ferritina, α -1 inhibidor de proteasa, α -1 antitripsina, transferrina, lipocortina, apolipoproteína E, transcobalamina II; haptoglobina	Respuesta de fase aguda
Lípidos bioactivos	PGE ₂ , PGF ₂ , PGF _{1α} , TXB ₂ , LKTB ₄ , LKTC ₄ , LKTD ₄ , LKTE ₄ , 12 HETE, 15 HETE	Apoptosis, diferenciación celular y oncogénesis, regulación de la actividad de plaquetas, y participación en homeostasis y hemostasis vascular.
Metabolitos Reactivos del Oxígeno y Nitrógeno	O ₂ ⁻ , OH ⁻ , HO ₂ , H ₂ O ₂ , ON	Respuesta microbicida

Tabla 3. Productos secretados por los monocitos/macrófagos y su función dentro de la respuesta inmune^a

topoyesis y linfopoyesis. Las diferentes funciones efectoras de los macrófagos ocurren luego de la activación ya sea por microorganismos, citoquinas u otros estímulos y dichas funciones dependen de la transcripción de genes específicos, necesarios para el desarrollo de una respuesta inmune efectiva.

Endocitosis/fagocitosis

El proceso de *endocitosis* se puede dividir en *pinocitosis* y *fagocitosis*. La *pinocitosis* es la internalización de vesículas, compuestas de membrana de la superficie celular de aproximadamente 0.1-1 μm de diámetro en las cuales ha quedado atrapado líquido extracelular; por su parte, la *fagocitosis* es la ingestión de partículas y sustancias solubles mediada por receptores de superficie (Figura 2), en donde la membrana de la célula engloba la partícula mediante la unión secuencial de receptores de la célula con ligandos de la partícula, un proceso denominado «en cremallera» (zipper), y donde las prolongaciones de la

Citoquinas	IL-1	Coestimulación de CPA y LT, inflamación y fiebre, respuesta de fase aguda, hematopoyesis
	IL-3	Crecimiento de células progenitoras
	IL-6	Respuesta de fase aguda, proliferación de LB, trombopoyesis, efecto sinérgico con IL-1 y TNF sobre LT
	IL-8	Quimioatrayente para neutrófilos y LT
	IL-10	Inhibe producción de citoquinas, promueve proliferación de LB y producción de Acs, suprime inmunidad celular, favorece crecimiento de células NK
	IL-12	Proliferación de células NK producción de IFN- γ , promueve respuesta inmune mediada por células
	G-CSF	Proliferación y diferenciación de granulocitos
	M-CSF	Proliferación y diferenciación de monocitos
	GM-CSF	Proliferación y diferenciación de granulocitos/macrófagos
	Eritropoyetina	Proliferación y diferenciación de eritrocitos
	MIP-1	Quimiotaxis; induce degranulación de granulocitos y aumenta el metabolismo oxidativo; induce la proliferación y activación de células NK
	MIP-2	Quimiotaxis; induce degranulación de neutrófilos pero no aumenta metabolismo oxidativo
	TGF- β	Función anti-inflamatoria (suprime producción de citoquinas y expresión de moléculas del CMH clase II), promueve reparación de tejido, inhibe proliferación de linfocitos y macrófagos

Tabla 3. Productos secretados por los monocitos/macrófagos y su función dentro de la respuesta inmune^a

membrana celular (seudópodos) se fusionan formando una vesícula que recibe el nombre de fagosoma y en la cual queda contenida la partícula. Alternativamente, un solo pseudópodo puede rodear una partícula y luego internalizarla, un proceso denominado «fagocitosis replegada».

Los macrófagos actúan como células depuradoras, porque fagocitan todo tipo de partículas extrañas, por ejemplo, microorganismos, macromoléculas, tejidos lesionados o muertos y glóbulos rojos seniles. Estas partículas fagocitadas son degradadas en el interior del macrófago por la acción de enzimas lisosomales, metabolitos oxidativos y mediadores derivados de lípidos como las prostaglandinas. La capacidad para internalizar diferentes sustancias y partículas fue tal vez la primera función descrita para los macrófagos a finales del siglo XIX y constituye la característica común de las células del SMF.

La fagocitosis es una secuencia compleja de eventos con múltiples consecuencias en la respuesta inmune. Al contacto del macrófago con el Ag se genera una serie de señales intracelulares que activan diferentes procesos en la célula, tales como reordenamiento del citoesqueleto, alteraciones en el tráfico de membrana, ac-

	PDGF	Proliferación de tejido conectivo, neuronas y células de músculo liso
	TNF- α	Induce la expresión de otros factores de crecimiento, aumenta la respuesta celular a factores de crecimiento e induce vías de señalización que conducen a proliferación celular, actúa en forma sinérgica con EGF y PDGF sobre algunas células, induce expresión de proto-oncogenes nucleares y varias interleuquinas.
	FGF	Proliferación de diferentes células; inhibe algunas células madre.
	IFN- α e IFN- β	Efecto antiviral, induce expresión del CMH-I en células somáticas, activa células NK y macrófagos.
	Factor angiogénico	Generación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis)
	PAF	Modula la proliferación de células hematopoyéticas

*Adaptado de Leenen PJM, Campbell PA. Heterogeneity of mononuclear phagocytes. An Interpretative review. In: Macrophages and Related Cells. Blood Cell Biochemistry, Volume 5. Horton MA (ed). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 1993. 454 pp

^bPG: Prostaglandina; LKT: leucotrieno; TX: Tromboxano; HETE: Acido hidroxiercosateranoico; MIP-1 y MIP-2: proteínas inflamatorias de macrófagos; PAF: Factor amplificador de la proliferación.

Tabla 3. Productos secretados por los monocitos/macrófagos y su función dentro de la respuesta inmune^a

tivación de mecanismos microbicidas, producción de citoquinas y quimoquinas pro- y anti-inflamatorias, activación de apoptosis y producción de moléculas necesarias para el proceso de presentación antigénica. La capacidad de los macrófagos para reconocer material extraño o deteriorado, depende de la expresión de diferentes receptores de superficie, los cuales participan en el reconocimiento e internalización del material que va a ser fagocitado. Algunos de estos receptores participan en la unión con el Ag, otros aumentan la eficiencia de la internalización y otros transmiten señales intracelulares que inician la fagocitosis. En-

tre los receptores implicados en la fagocitosis se encuentran los receptores Fc, los CR, principalmente C3b y C4b, los SR, que median la unión e ingestión de diferentes lipoproteínas modificadas químicamente, y diferentes receptores tipo lectinas que reconocen carbohidratos presentes en las partículas blanco. De otro lado, las células seniles o dañadas, que sufren apoptosis, son reconocidas por diferentes receptores, entre los cuales se incluyen el receptor de vitronectina, algunas lectinas que reconocen azúcares anormales o inmaduras y un receptor que al parecer se une a fosfatidilserina.

FcR: Receptor de membrana específico para la región Fc de los diferentes isotipos de Igs: G (Fc γ R), E (Fc ϵ R) y A (Fc α R). Los FcR median muchas de las funciones efectoras dependientes de Acs tales como fagocitosis, activación de mastocitos y activación de células NK. Entre los FcR más importantes en la fagocitosis están los Fc γ R que reconocen partículas opsonizadas con IgG y que pueden

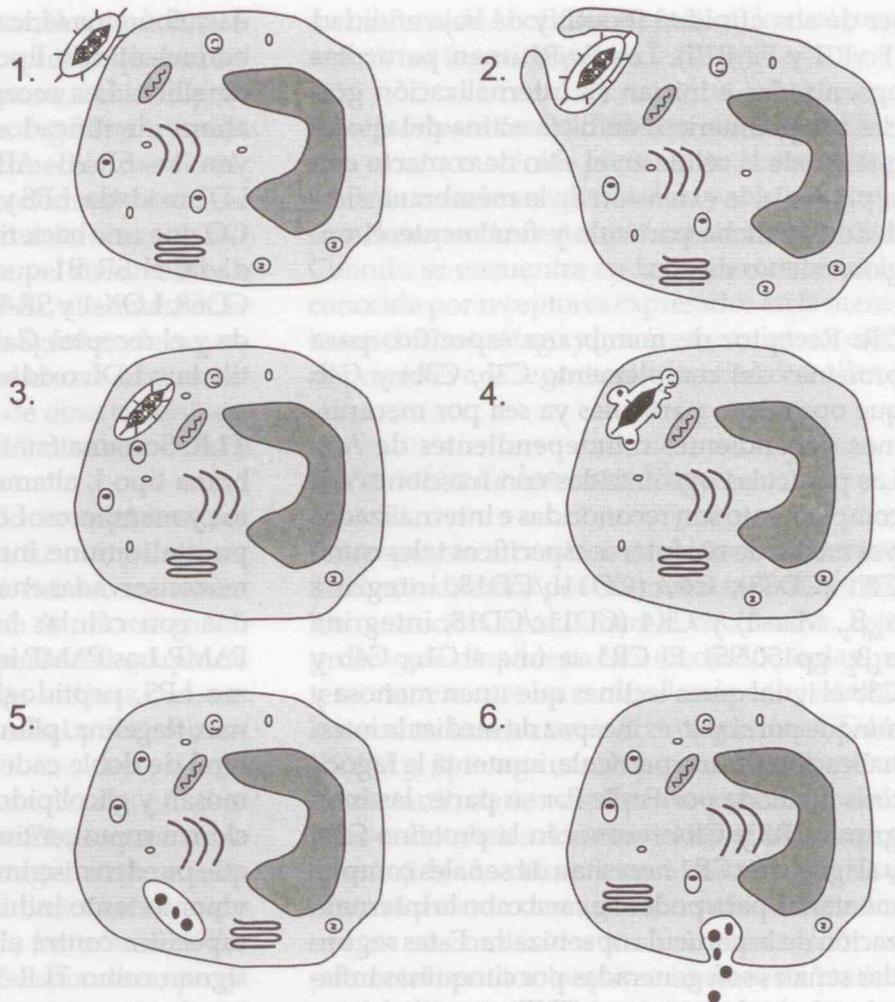


Figura 2. Fagocitosis. La membrana citoplasmática del macrófago tiene contacto con la partícula a fagocitar a través de la interacción de receptores de membrana que reconocen moléculas o ligandos presentes en la membrana de la partícula a fagocitar (1). La unión de la partícula a los receptores induce la invaginación de la membrana citoplasmática del macrófago y forma pseudópodos que rodean la partícula que está en proceso de ser fagocitada (2). Una vez internalizada, la partícula queda contenida en una vacuola o fagosoma (3) que luego se fusiona con los lisosomas presentes en el citoplasma del macrófago formando el fagolisosoma (4); al interior del fagolisosoma se vierten las enzimas digestivas, contenidas en los lisosomas, que degradan proteínas, RNA, compuestos fosfatos, lípidos y carbohidratos, lisozimas, lactoferrina y radicales del oxígeno y el nitrógeno con potente actividad microbicida y la partícula es degradada o destruida (5). Finalmente, los detritos celulares o productos de la digestión de la partícula son expulsados al espacio intersticial donde son fagocitados por otras células (6).

ser de alta afinidad (FcγRI) y de baja afinidad (FcγRII y FcγRIII). Los FcγRI unen partículas opsonizadas e inician su internalización gracias a la polimerización de la actina del citoesqueleto de la célula en el sitio de contacto con la partícula, la extensión de la membrana alrededor de dicha partícula y finalmente el englobamiento de ella.

CR: Receptor de membrana específico para proteínas del complemento C3b, C3bi y C4b que opsonizan partículas ya sea por mecanismos dependientes o independientes de Acs. Las partículas opsonizadas con fracciones del complemento son reconocidas e internalizadas por medio de receptores específicos tales como CR1 (CD35), CR3 (CD11b/CD18, integrina $\alpha_M\beta_2$, Mac-1) y CR4 (CD11c/CD18, integrina $\alpha_X\beta_2$, gp150/95). El CR1 se une a C1q, C4b y C3b al igual que a lectinas que unen manosa y aunque por sí solo es incapaz de mediar la internalización de una partícula, aumenta la fagocitosis mediada por FcγR. Por su parte, las integrinas CR3 y CR4 reconocen la proteína C3bi y al igual que CR1 necesitan de señales complementarias para poder llevar a cabo la internalización de la partícula opsonizada. Estas segundas señales son generadas por citoquinas inflamatorias tales como el TNF- α o productos microbianos como el LPS y la fibronectina. *In vitro*, la segunda señal puede ser inducida por ésteres de forbol, lo que sugiere que involucra la activación de la PKC. El CR3 juega un papel muy importante en la adhesión de neutrófilos y monocitos al endotelio vascular durante la respuesta inflamatoria, posiblemente a través del reconocimiento de la molécula ICAM-1.

SR: Los receptores depuradores son receptores que median la unión e internalización de diferentes componentes de la pared celular de microorganismos tales como LPS, peptidoglicanos y ácido teicoico. Adicionalmente, puede unir lipoproteínas de baja densidad acetiladas,

albúmina sérica bovina, polianiones, poliribonucleótidos, lipopolisacáridos y partículas de sílica. Los receptores depuradores hasta ahora identificados en los macrófagos incluyen: los SR AI- AII que unen LDL acetilada, LDL oxidada, LPS y bacterias; el receptor MARCO que une bacterias; CD36 que une LDL oxidada; el SR B1 que une HDL; los receptores CD68, LOX-1 y SR-PSOX que unen LDL oxidada y el receptor Galectina-3 que une LDL acetilada y LDL oxidada.

TLR: Son una familia de proteínas transmembrana tipo I, altamente conservadas en insectos y mamíferos. Los TLR participan en la respuesta inmune innata al reconocer estructuras conservadas en microorganismos no asociadas con células humanas conocidos como PAMP. Los PAMP incluyen moléculas tales como LPS, peptidoglicano, ácido teicoico, mannan, flagelina, pilina y DNA en bacterias; RNA viral de doble cadena, y ácido lipoteicoico, zimosán y glicolípidos en hongos. Los TLR funcionan como centinelas del sistema inmune ya que pueden discriminar entre diferentes PAMP y por lo tanto inducen una respuesta inmune específica contra el patógeno. Los TLR se designan como TLR-1, TLR-2, TLR-3, TLR-4, etc y cada uno reconoce un pequeño rango de patrones moleculares. Así por ejemplo, el TLR-2 reconoce peptidoglicano y lipoproteínas, el TLR-3 reconoce RNA viral de doble cadena, el TLR-4 reconoce LPS y ácido lipoteicoico, el TLR-5 reconoce la flagelina de bacterias, el TLR-6 reconoce lipoproteínas de micoplasma y el TLR-9 reconoce DNA bacteriano. Sin embargo, aún se desconoce como es el mecanismo por medio del cual los TLR reconocen su ligando específico. La unión de los TLR a las moléculas de los microorganismos induce la señalización a través de la activación del factor de transcripción NF- κ B para la expresión de genes que codifican para la síntesis de citoquinas inflamatorias, principalmente IL-1, IL-

8, IL-12, IL-18 y TNF- α , las cuales a su vez se unen a sus respectivos receptores, presentes en las células del sistema inmune, e inician procesos de inflamación, fiebre, fagocitosis y producción de metabolitos intermediarios del oxígeno y del nitrógeno, proporcionando una respuesta inmediata contra el microorganismo invasor. También direccionan el desarrollo de la respuesta inmune adquirida, al aumentar la capacidad de presentación antigénica y la expresión de moléculas coestimuladoras necesarias para la producción de Acs y de otras citoquinas, al igual que la respuesta de LT citotóxicos.

Receptores para lectinas: Son receptores que unen moléculas de manosa, fucosa, galactosa, manosa 6 fosfato y manosa-fucosa, las cuales son abundantes en la mayoría de microorganismos patógenos y forman parte del grupo de los PAMP. La unión de estas lectinas con sus receptores proporciona la señal para estimular la fagocitosis.

Receptor para vitronectina: El receptor de la vitronectina es una $\alpha_3\beta_3$ integrina que media diferentes interacciones celulares incluyendo la adherencia a vitronectina, factor von Willebrand, fibrinógeno y trombospondina; juega un papel importante en la apoptosis y en el daño del endotelio vascular. La unión de los receptores a la superficie de la partícula genera señales de activación mediadas fundamentalmente por proteínas unidoras de actina, moléculas reguladoras del tráfico de membrana, canales iónicos, quinasas y lipasas que son las responsables de la remodelación de la membrana y del reordenamiento de la actina del citoesqueleto, permitiendo la extensión de la membrana plasmática alrededor de la partícula para su posterior englobamiento.

Lectinas: Los macrófagos expresan en su membrana moléculas tipo lectinas que reconocen cambios en los carbohidratos expresados en la

membrana de la célula apoptótica, lo cual promueve su fagocitosis.

Receptor para fosfatidilserina: La fosfatidilserina es una molécula presente en la cara interna de la membrana plasmática y solo se expresa en la superficie externa durante la apoptosis. Cuando se encuentra en la cara externa es reconocida por receptores expresados en la membrana del macrófago y gracias a esta interacción se promueve la fagocitosis de células seniles.

Activación de los macrófagos

En respuesta a cambios tisulares y vasculares locales, inducidos por estímulos inflamatorios, los monocitos abandonan la circulación. Este proceso de diapédesis está mediado por las interacciones entre las moléculas de adhesión tales como L-selectina, β_2 integrinas, CD44, VCAM y β_1 integrinas, expresadas en la membrana tanto de los monocitos como de las células endoteliales. Una vez estas células llegan a los tejidos se diferencian a macrófagos. Durante el proceso de migración sufren alteraciones en sus moléculas de membrana y en su potencial secretor lo que se traduce en maduración, diferenciación y adquisición de funciones efectoras; la selectividad de la respuesta efectora de los macrófagos dependerá entonces de la naturaleza del estímulo, las citoquinas producidas, y los receptores expresados por los diferentes leucocitos que rodean al macrófago.

En los tejidos, los macrófagos se pueden encontrar ya sea como macrófagos "inducidos" o "preparados" o como macrófagos completamente "activados". Sin embargo, la diferencia entre estos dos tipos de macrófagos usualmente es arbitraria y depende en gran parte de los estímulos utilizados para "activar" el macrófago y de la respuesta efectora evaluada. En términos generales, se habla de macrófagos "inducidos"

cuando son generados en respuesta a señales tales como LPS, bacterias Gram positivas muertas por calor, glucanos de levaduras, GM-CSF y ésteres de forbol, entre otros. En el estado "inducido" los macrófagos aumentan la expresión de moléculas del CMH clase II, la capacidad de presentación de Ag y el consumo de oxígeno, pero disminuyen su proliferación. Los macrófagos "activados" son los que se obtienen luego de exposición al IFN- γ . Los macrófagos "activados" se caracterizan por su incapacidad para proliferar, por un aumento en la tasa de fagocitosis y biosíntesis de lípidos de membrana, por un incremento en el contenido y actividad de enzimas como mieloperoxidasa, lactoferrina y enzimas lisosomales involucradas en resistencia a microorganismos, por un aumento en la actividad metabólica (explosión respiratoria) que involucra el consumo de oxígeno y resulta en la producción de metabolitos reactivos del oxígeno y por ende, en el aumento del potencial microbicida para microorganismos intracelulares y parásitos facultativos, y finalmente, por un incremento en la capacidad de lisar células tumorales. Los macrófagos "activados" presentan, además, una capacidad máxima de síntesis y secreción de mediadores que participan en inflamación y reparación de tejidos incluyendo TNF- α , PGE₂, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 e IL-12; estas citoquinas proinflamatorias también pueden regular la respuesta inflamatoria temprana frente a los microorganismos.

El término macrófago "activado" se reserva para aquellas células que poseen una actividad funcional incrementada y no debe confundirse con el término macrófago "diferenciado" que hace referencia al macrófago que ha adquirido una capacidad aumentada para realizar funciones específicas. Característicamente, los macrófagos "diferenciados", residentes en tejidos, son relativamente inactivos desde el punto de vista de respuesta inmune, tienen bajo consumo de oxígeno, bajos niveles de expresi-

sión de genes del CMH clase II y poca o ninguna capacidad de secretar citoquinas. Sin embargo, poseen capacidad fagocítica y quimiotáctica y retienen alguna capacidad proliferativa. La capacidad del macrófago para sintetizar y liberar los productos depende no solo del estado mismo del macrófago, es decir, si es un macrófago "diferenciado" (residente), un macrófago "inducido" o un macrófago "activado", sino también del estímulo, lo cual incluye el contacto con productos microbianos y la exposición a citoquinas y otras moléculas inmunomoduladoras presentes en su microambiente inmediato. Aunque la principal citoquina activadora de macrófagos es el IFN- γ , muchos otros factores incluyendo IFN- α , IFN- β , IL-3, M-CSF, GM-CSF y TNF- α también pueden inducir a los macrófagos a realizar funciones determinadas.

Los macrófagos poseen diferentes vías de activación que resultan de las interacciones con microorganismos y sus productos, con células y citoquinas durante el desarrollo de la respuesta inmune contra infecciones, al igual que durante el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad u otros procesos anormales no infecciosos, como el cáncer y las enfermedades autoinmunes. La activación de macrófagos, para una respuesta microbicida, es importante, en especial contra aquellos microorganismos patógenos intracelulares y extracelulares que sobreviven dentro de las células y que son capaces de crecer en los fagosomas de los macrófagos donde quedan protegidos de los efectos de los Acs y de los LT citotóxicos. Estos microorganismos se mantienen en ese ambiente hostil al inhibir la fusión del fagosoma con los lisosomas, o al prevenir la acidificación de los fagosomas cuyo pH ácido es necesario para la activación de las proteasas lisosomales. Por tanto, la eliminación de estos microorganismos depende de la activación del macrófago por citoquinas del patrón Th1 como el IFN- γ . Los ma-

crófagos activados por el IFN- γ fusionan sus lisosomas a los fagosomas, en forma más eficiente, exponiendo así al microorganismo ingerido a una variedad de enzimas lisosomales microbicidas. La activación, también induce la producción de radicales derivados del oxígeno y del óxido nítrico, los cuales tienen una potente actividad microbicida, y la síntesis de péptidos antimicrobianos y de proteasas que pueden ser liberadas para atacar microorganismos extracelulares.

La activación de los monocitos y macrófagos depende de varias señales o estímulos. El IFN- γ proporciona una primera señal mientras la otra señal se genera durante el contacto con el LT a través de la interacción de las moléculas CD40 ligando y CD28 (expresadas en el LT) y las moléculas CD40 y B7, respectivamente (expresadas en el macrófago). Los LT CD8+ también son fuente importante de IFN- γ y pueden activar macrófagos que estén presentando Ag derivados de proteínas citosólicas en asociación con moléculas del CMH clase I. También es posible que el TNF- α o TNF- β asociado a la membrana pueda sustituir la molécula CD40 y estimular al macrófago para que secreta TNF- α . Los macrófagos activados secretan IL-12 la cual dirige la diferenciación de LT CD4+ no sensibilizados, activados, hacia células efectoras Th1.

A pesar que los macrófagos activados son extremadamente eficientes en la destrucción de microorganismos patógenos, no pueden permanecer en un estado indefinido de activación; por un lado, porque en este estado consumen grandes cantidades de energía y, además, porque la activación se asocia con daño tisular como resultado de la liberación de mediadores antimicrobianos tales como radicales oxidativos, ON y proteasas. La capacidad de actuar sobre blancos celulares implica que los macrófagos deben permanecer en condiciones nor-

males, en un estado no activado, para no reaccionar contra células sanas. Por lo tanto, la activación del macrófago es regulada por mecanismos que controlan la síntesis de IFN- γ , lo cual al parecer se logra regulando la vida media de su RNAm, por medio de la producción de una proteína que promueve su degradación; esto a su vez limita el periodo de producción de la citoquina. La destrucción rápida del RNAm del IFN- γ , así como la liberación dirigida de esta citoquina en el sitio de contacto entre la célula Th1 activada y la célula blanco, limita la acción efectora de la célula Th1 hacia el macrófago infectado. Adicionalmente, el macrófago activado puede ser inhibido por citoquinas tales como TGF- β , IL-4, IL-10 e IL-13, PGE₂, el MDF que bloquea la activación por el IFN- γ y el péptido relacionado al gen de la calcitonina. Dado que muchos de estos factores inhibitorios son producidos por células Th2, la inducción de estas células representa una importante vía para controlar las funciones efectoras de los macrófagos activados. Además, las células Th2 no producen IFN- γ y no expresan el CD40L.

Señalización durante la activación del monocito/macrófago

Las interacciones ocurridas entre las moléculas expresadas, o adheridas a la superficie de la partícula o célula (incluyendo microorganismos) que va a ser fagocitada y los receptores expresados en la membrana del macrófago comunican elementos del citoesqueleto y mediadores de señalización que no solo modulan el ensamblaje del citoesqueleto sino que también inducen la señalización para la activación del macrófago.

Entre las moléculas que median la señalización intracelular para la activación de la célula fagocítica se destacan las siguientes:

- **Tirosinas quinasas:** La activación de la tirosina quinasa Syk es necesaria para que ocurra la fagocitosis ya que induce la ingestión y la polimerización de la actina. La activación de Syk es un paso crítico en la fagocitosis mediada por Fc γ R.
- **Fosfoinositol 3 quinasa:** Es una enzima que pertenece a la familia de quinasas de lípidos que cataliza la fosforilación del PI(4,5)P $_2$ a PI(3,4,5)P $_3$, un importante fosfolípido que atrae moléculas que participan en la señalización, tal como la quinasa AKT/PKB, hacia regiones específicas de la membrana. La PI 3-quinasa puede ser activada por la tirosina quinasa Syk y así regula la forma de la célula y la propagación de los pseudópodos, ya sea actuando sobre las integrinas de la membrana celular o a través de la polimerización de la actina. La inhibición de la PI 3-quinasa bloquea la fagocitosis de partículas opsonizadas con IgG y complemento y bloquea además la extensión y fusión de la membrana alrededor de la partícula unida.
- **PLC:** Esta enzima convierte el PI(4,5)P $_2$ en IP $_3$ y DAG, segundos mensajeros que participan en la movilización del Ca $^{2+}$ intracelular y activación de la PKC, respectivamente. Por su parte, la actividad de PKC es necesaria para que ocurra la fagocitosis puesto que se asocia al fagosoma naciente y permanece asociada a este hasta su maduración. La inhibición de la PLC bloquea la internalización de la partícula, al bloquearse la formación de filamentos de actina alrededor de la partícula unida a la membrana del fagocito
- **PKC:** Como se mencionó previamente, la actividad de la PKC es necesaria en la etapa temprana de internalización de partículas, dado que permite la formación de filamentos de actina alrededor de la partícula que se ha unido a la membrana del macrófago.
- **PLA $_2$:** La PLA $_2$ es otra enzima importante en la fagocitosis ya que convierte ácidos grasos en fosfolípidos y participa en la vía del ácido araquidónico para la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos. La PLA $_2$ es activada por la PKC y participa en la fusión de los endosomas permitiendo así la formación de fagosoma y del fagolisosoma.
- **GTPasas:** Las GTPasas de la familia Rho (Cdc42, Rac y Rho) son moléculas de bajo peso molecular que tienen un papel importante en la regulación del proceso de fagocitosis, al participar en la remodelación de la membrana del macrófago durante la adhesión de la partícula a fagocitar, en la extensión y fusión de los pseudópodos para el englobamiento de dicha partícula y en la posterior formación del fagosoma. Adicionalmente, estas enzimas interactúan con otras vías de señalización que involucran la fagocitosis mediada por FcR.

Los intentos que se han hecho para entender las cascadas de señalización, involucradas en la inducción y regulación de las funciones efectoras de los macrófagos, han arrojado datos contradictorios; sin embargo, estos resultados pueden deberse en parte, a variaciones en los procedimientos y métodos para activar los macrófagos, y a la amplia heterogeneidad que poseen estas células, especialmente en lo relacionado con expresión de moléculas de membrana, muchas de las cuales son receptores para citoquinas y para productos microbianos como LPS.

El LPS es una potente endotoxina derivada de bacterias Gram negativas con abundantes propiedades inmunomoduladoras, principalmente para LB y monocitos/macrófagos. En los macrófagos, el LPS estimula la producción de IL-1, IL-6 y de TNF- α , la actividad citotóxica contra células tumorales y la producción de prostaglandinas, principalmente PGE $_2$, e inhibe la pre-

sentación antigénica mediada por moléculas del CMH-II. Estas respuestas al LPS están mediadas principalmente por la proteína LBP, el CD14 y el TLR-4. Las diferentes acciones del LPS en el macrófago se atribuyen a diferentes mecanismos de señalización, tales como activación de la PKC, fosforilación de los substratos de PKC y aumento del AMPc. Sin embargo, en algunos estudios se demostró que el LPS estimula el metabolismo del PIP₂ resultando en niveles de IP₃ y Ca²⁺ intracelular aumentados y de DAG disminuidos, lo cual disminuye rápidamente el pH intracelular y activa la bomba de Na⁺/H⁺ sin alterar los niveles basales de AMPc. Sin embargo, al parecer el LPS solo, usualmente no induce función efectora en los macrófagos a menos que hayan sido "preparados" por el IFN- γ , ya que esta citoquina induce la expresión de receptores para TNF- α en los macrófagos. Con la expresión de los receptores para TNF- α en la membrana del macrófago, el TNF- α producido por los mismos macrófagos en respuesta al LPS puede actuar de manera autocrina, amplificando la secreción de citoquinas e iniciando la cascada de señales que conducen a la respuesta microbicida, mediante la activación del factor de transcripción NF- κ B.

Por otro lado, el IFN- γ se une a su receptor específico lo que conduce a la fosforilación y activación de las proteínas quinasas JAK1 y JAK2. Las JAK activadas fosforilan residuos de tirosina en el receptor, creando dos sitios de unión para los factores de transcripción STAT. El homodímero STAT se traslada al núcleo donde se une a secuencias específicas de ADN, TTNCNNNA, conocidas como secuencias GAS y AGTTTCNNTTCNC/T, conocidas como secuencias ISRE e inician la transcripción de los genes que codifican para las moléculas del CMH, iNOS, IFN- α/β , Fc γ RI, gp91phox y otros. Muchos de los genes inducidos por IFN- γ también son inducidos por el TNF- α y en la mayoría de los casos dicha inducción es siné-

gica. El sinergismo entre estas dos citoquinas al parecer involucra una interacción entre el factor de transcripción NF- κ B activado por el TNF- α y un factor de transcripción inducido por el IFN- γ denominado IRF-1. La mayoría de los genes inducibles por TNF- α e IFN- γ contienen un sitio ISRE al igual que un sitio NF- κ B en su promotor. La estrecha relación sinérgica entre el TNF- α (una citoquina predominantemente secretada por macrófagos) y el IFN- γ (una citoquina producida preferencialmente por LT y células NK) sugiere la existencia de un sinergismo entre el macrófago y el LT o la célula NK en la dirección de la respuesta inmune contra microorganismos infecciosos, particularmente en la inducción de ON, el cual tiene una amplia actividad antimicrobiana.

Funciones efectoras de los monocitos y macrófagos

La activación coordinada de las señales inducidas durante la fagocitosis conduce a diferentes funciones efectoras, como la muerte de microorganismos y la producción de mediadores inflamatorios que dirigen la respuesta inmune adquirida. Las consecuencias de la fagocitosis varían dependiendo del tipo de microorganismo y de las moléculas que inducen la activación de los fagocitos. A continuación se describen las diferentes funciones efectoras de los macrófagos como consecuencia de su activación.

Respuesta inflamatoria

La internalización de microorganismos por medio de la fagocitosis se acompaña también de la producción de citoquinas y mediadores lipídicos que atraen a otros macrófagos y a otras células del sistema inmune hacia el sitio donde se está desarrollando la respuesta inmune. La infiltración de macrófagos es una caracterís-

tica de la respuesta inflamatoria ante un estímulo antigénico. Aunque la respuesta mediada por macrófagos es por lo general un evento benéfico y favorable en el curso de una infección, la presencia de estas células en los tejidos, por períodos prolongados, puede conducir a inflamación; es el caso de varias dermatosis inflamatorias tales como psoriasis, dermatitis atópica y dermatitis de contacto crónica.

Como se ha descrito en el capítulo de inflamación, la migración de leucocitos al sitio del daño es un proceso que ocurre bajo la influencia de citoquinas y está mediado por interacciones célula-célula, a través de moléculas de adhesión. Inicialmente, quimoquinas producidas durante la respuesta inflamatoria, como la MCP-1, dirigen la migración de los monocitos, a través del endotelio vascular, hacia el sitio de la infección. Luego, las citoquinas que son secretadas por los macrófagos, particularmente la IL-1 y el TNF- α , estimulan la expresión de moléculas de adhesión tipo selectina E en la membrana de las células endoteliales para favorecer así el rodamiento de los leucocitos sobre estas células. El aumento en el flujo de sangre permite que los leucocitos que ruedan sobre el endotelio vascular se desplacen hasta encontrar moléculas que les permiten una adhesión más firme a las células endoteliales, tales como VCAM-1 e ICAM-1, las cuales interactúan con sus ligandos respectivos, VLA-4 y LFA-1/Mac-1. Esta adhesión, induce la salida de leucocitos adheridos al endotelio hacia el tejido extravascular.

Adicionalmente, los macrófagos producen factores que estimulan la proliferación de fibroblastos como el PDGF, factores angiogénicos como el factor de crecimiento de células del endotelio vascular y factores que regulan la síntesis de tejido conectivo como el TGF- β , al igual que elastasas y colagenasas que promueven la reparación de los tejidos lesionados.

Entre las citoquinas proinflamatorias producidas por los macrófagos activados están la IL-1, IL-6, IL-8 y el TNF- α implicadas en la inducción de la respuesta de fase aguda, inflamación y fiebre. Además, producen IL-12 que estimula células NK y LT para que produzcan IFN- γ , sirviendo entonces de puente entre la respuesta inmune innata y la respuesta inmune adaptativa.

La respuesta inflamatoria inducida por los macrófagos depende, en gran parte, de los receptores que hayan estado involucrados durante la fagocitosis. Es así como, la fagocitosis mediada por FcR tiene la capacidad de inducir la respuesta inflamatoria, mientras que en la fagocitosis mediada por otros receptores no se induce inflamación, a menos que participen correceptores adicionales, como ocurre durante la internalización mediada por CR3 que requiere de la participación de los TLR4.

Presentación de Ag y activación de linfocitos T

Como se ha descrito en capítulos previos, los macrófagos y otras células del SMF, tales como las células dendríticas, desempeñan un papel importante en la presentación de Ag, entre otros, derivados de microorganismos infecciosos y de esta forma inician y la respuesta inmune mediada por LT. La presentación de Ag en el contexto del CMH clase II a subpoblaciones de LT CD4+ en combinación con la IL-12 producida por los macrófagos infectados, estimula en el LT la producción de IFN- γ y la expresión de moléculas coestimuladoras tipo CD40L. El IFN- γ es la citoquina más importante en la activación de macrófagos e induce una respuesta microbicida eficiente que permite la destrucción del microorganismo agresor. Por su parte, la molécula CD40L se acopla a la molécula CD40 expresada en la CPA y activa una vía de señalización en el macrófago, similar a la inducida por el receptor para TNF- α . Por

otro lado, los LT CD8+ también pueden activar macrófagos en forma similar, aunque los Ag reconocidos por esta subpoblación de LT están acoplados a moléculas CMH clase I. Adicionalmente, la IL-12 también aumenta la función citotóxica de los LT CD8+.

Respuesta microbicida

La internalización de microorganismos por medio de la fagocitosis se acompaña generalmente de la activación de distintos mecanismos microbicidas. Los monocitos/macrófagos tienen la capacidad de destruir los microorganismos patógenos recién internalizados gracias a la fusión del fagosoma con lisosomas citoplasmáticos que conducen a la formación de un fagolisosoma en donde las enzimas lisosomales al entrar en contacto con la partícula fagocitada, la destruyen. En respuesta a las señales producidas por el IFN- γ , los macrófagos activados utilizan como mecanismo microbicida la conversión catalítica del oxígeno molecular en especies reactivas de oxígeno; éstos son agentes oxidantes con una alta capacidad microbicida, producidos por el ensamblaje del sistema enzimático NADPH oxidasa en la membrana del fagolisosoma, un proceso que se conoce como "explosión respiratoria". La activación de la NADPH oxidasa también depende de los receptores que han participado en la fagocitosis puesto que se ha demostrado que la fagocitosis mediada por FcR activa la NADPH oxidasa tanto en macrófagos como en neutrófilos, mientras que la participación de CR3 no conduce a la producción de metabolitos reactivos del oxígeno. Por su parte, la participación de los receptores de manosa-fucosa en la producción de metabolitos oxidativos no es clara.

Adicionalmente, los macrófagos también pueden producir radicales libres gracias a la acción de la enzima iNOS. La iNOS es una enzi-

ma citosólica que se expresa en los macrófagos activados, en respuesta a LPS e IFN- γ , que tiene la capacidad de catalizar la conversión de la arginina en citrulina, liberando ON. Cuando el ON se combina con el peróxido de hidrógeno o con el anión superóxido, producidos durante la explosión respiratoria, forma radicales peroxinitritos que son muy reactivos y por ende, capaces de destruir los microorganismos.

Cuando un microorganismo resiste los efectos microbicidas de los macrófagos activados se desarrolla una infección con inflamación crónica con un patrón característico consistente en un área central de macrófagos rodeados por linfocitos activados, que se conoce como granuloma. El centro de estos granulomas por lo general está conformado por células gigantes (macrófagos fusionados) que sirven de pared protectora al microorganismo para resistir la destrucción.

Actividad citotóxica contra células tumorales

La presencia de macrófagos en tejidos tumorales se puede explicar por el hecho que muchos tumores pueden secretar factores quimiotácticos para macrófagos o M-CSF; la liberación local de citoquinas o la activación del complemento también puede influir en la presencia de macrófagos en un tejido tumoral. Se ha sugerido que los macrófagos activados pueden destruir células tumorales, o al menos impedir su crecimiento, por medio de diferentes mecanismos como son la liberación de hidrolasas y otras enzimas lisosomales y metabolitos intermedios reactivos del oxígeno y el nitrógeno, factores solubles tales como, componentes del complemento, proteasas de serina, arginasa y citoquinas como el TNF- α . Esta potente sustancia tumoricida puede destruir tumores mediante efectos tóxicos directos, al inducir apoptosis en la célula tumoral o mediante efectos tóxicos indirectos, al ocasionar necrosis y trombo-

sis en los vasos sanguíneos tumorales, un proceso que se conoce como Reacción de Shwartzman. Adicionalmente, los macrófagos pueden destruir células tumorales en presencia de Ac por el mecanismo de ADCC.

Sin embargo, en algunos casos, los macrófagos presentes dentro del tumor pueden estimular el crecimiento de células tumorales ya sea por la liberación de factores de crecimiento como el M-CSF, por la estimulación de la angiogénesis o mediante la secreción de factores inhibidores de la quimiotaxis de macrófagos o sustancias que previenen su propia activación. Algunas evidencias sugieren también que los macrófagos tumorales pueden suprimir la respuesta mediada por LT y LB al disminuir la expresión de moléculas del CMH clase II y por ende disminuir su capacidad de presentación antigénica. Sin embargo, no existe una correlación entre el número de macrófagos y el potencial metastásico del tumor.

Regulación de la respuesta inmune

Los monocitos/macrófagos juegan un papel primordial en la regulación de la respuesta inmune, lo cual depende principalmente de su gran capacidad de sintetizar y secretar una variedad de moléculas con funciones diversas. De las moléculas y factores producidos depende que se desarrolle la respuesta inflamatoria y la activación de los LT específicos para una adecuada respuesta microbicida y tumoricida. Por otro lado, los macrófagos pueden suprimir la respuesta inmune ya sea inhibiendo directamente la proliferación y/o activación de linfocitos reactivos o suprimiendo la función estimuladora de las CPA. Esta función supresora también la ejercen por medio de la producción de factores tales como PGE_2 , $IFN-\beta$, $TGF-\beta$, IL-10, lipocortina y ácidos grasos insaturados que pueden suprimir la transcripción de iNOS, IL-1, IL-6, $TNF-\alpha$ e IL-12.

Regulación de la hematopoyesis y la linfopoyesis

Los fagocitos mononucleares están involucrados en el desarrollo de los diferentes tipos de células hematopoyéticas. Ellos participan no solo en el desarrollo de células eritroides y mieloides sino que también están implicadas en el desarrollo de LB y LT en médula ósea y timo, respectivamente. Con respecto al desarrollo de células eritroides y mieloides, los macrófagos realizan varias funciones: 1) endocitosis de detritos celulares tales como los restos nucleares que resultan del desarrollo de los eritrocitos, 2) producción de factores de crecimiento que permiten el desarrollo de células hematopoyéticas; varias de las citoquinas generadas durante la respuesta inmune estimulan el crecimiento y diferenciación de las células progenitoras de médula ósea, entre las que se incluyen GM-CSF, G-CSF, M-CSF, IL-1, IL-6 y eritropoyetina que actúan sobre las correspondientes células progenitoras aumentando la producción de granulocitos, monocitos y eritrocitos, 3) participan en el recambio del hierro; una vez que los eritrocitos seniles son fagocitados por los macrófagos en médula ósea, pulpa roja del bazo y en el hígado, almacenan el hierro en forma de ferritina o lo liberan al plasma en donde se une a la apotransferrina. De igual forma, los macrófagos participan en el desarrollo de LB al proporcionar las señales necesarias para las fases finales de la maduración a través de la producción de IL-6; sin embargo, los macrófagos no son un requerimiento esencial para el desarrollo de los LB puesto que no son esenciales para la supervivencia y proliferación de LB en cultivos de médula ósea a largo plazo. De otro lado, la presencia de fagocitos mononucleares en todos los compartimentos del timo sugiere funciones importantes en el desarrollo de LT, aunque muchas facetas de este proceso permanecen sin esclarecer. Los macrófagos en el timo se agrupan con los timocitos que se están desarrollando y favorecen la pro-

liferación de protimocitos. Adicionalmente, las células interdigitantes presentes en la médula del timo participan en procesos de selección negativa de LT potencialmente autorreactivos; además, citoquinas como la IL-12, IL-15, IL-18, favorecen la diferenciación, proliferación y activación de LT, respectivamente, mientras que la IL-6 e IL-10 favorecen la proliferación de LB y la producción de Acs.

Heterogeneidad de las células mononucleares fagocíticas

Los macrófagos constituyen una población heterogénea de células que difieren en su origen, estadio de desarrollo (diferenciación), adaptación local (localización en un sitio anatómico particular) y en su fenotipo y función; esta heterogeneidad constituye una fuente de interés pero al mismo tiempo de confusión para los investigadores, ya que los mecanismos responsables de dicha heterogeneidad aún son motivo de estudio. Dado que la función de los macrófagos depende, en parte, de las señales recibidas del microambiente circundante, se sugiere que la heterogeneidad la pueden originar determinadas condiciones específicas de un tejido en particular.

Heterogeneidad fenotípica de las células mononucleares fagocíticas

La ausencia de una molécula que se exprese en todas las diferentes poblaciones de monocitos/macrófagos sugiere la amplia heterogeneidad fenotípica y funcional que existe en esta población celular y que da origen a diferentes subpoblaciones; aún no es claro si un perfil fenotípico determinado, se relaciona de alguna manera con una función efectora particular. La disponibilidad de Acs monoclonales específicos para diferentes moléculas ha permitido y permitirá obtener información valiosa, no solo

en relación con el fenotipo de los macrófagos y sus precursores sino también para el mejor entendimiento de la adaptación de éstas células a diferentes ambientes en el organismo. De esta manera, ha sido posible comparar las células presentes en los diferentes tejidos y sitios anatómicos, y demostrar que las poblaciones de monocitos/macrófagos aislados de cada sitio difieren en su fenotipo. Es el caso de los macrófagos alveolares humanos que expresan altos niveles de moléculas del CMH clase II, mientras que los macrófagos peritoneales expresan bajos niveles de las mismas. Algo similar ocurre con algunas de las sustancias secretadas por los monocitos/macrófagos, pues unas son producidas en forma constitutiva mientras que otras son secretadas en forma inducida por la acción de estímulos exógenos que pueden dirigir la secreción selectiva de ciertas moléculas. Esta situación ocurre con productos como lisozimas, proteínas del complemento y apolipoproteína E que, al parecer, son secretados en forma constitutiva y sintetizados a una tasa constante, mientras que para la mayoría de productos la secreción es iniciada por la unión de ligandos específicos a sus receptores o por agentes que modulan la actividad del receptor y que pueden redirigir la síntesis de productos en el macrófago a favor de sustancias específicas. Es el caso del PAF y de peptidasas neutras como la colagenasa y la elastasa, cuya secreción es más eficiente por macrófagos de exudado, que por macrófagos residentes, lo que sugiere que señales apropiadas pueden inducir tanto la síntesis como la secreción de éstas proteínas. Al contrario, la secreción de proteasas se puede reducir en forma dramática cuando la α -2 macroglobulina se une a su receptor; en este caso, el receptor tiene un papel autorregulador al inhibir la secreción de proteasas cuando hay abundantes complejos proteasas-receptor en el microambiente que rodea al macrófago. Las interacciones ligando-receptor también pueden resul-

tar en la liberación de ácido araquidónico mediada por PLA₂ y su posterior conversión a prostaglandinas y leucotrienos. A su vez, las prostaglandinas de la serie E tienen un papel autoregulatorio al inhibir ciertas funciones de los macrófagos, como la producción de TNF- α inducida por LPS.

Se ha demostrado también que la producción de factores B y C3 del complemento aumenta luego de la activación de monocitos o de macrófagos derivados de médula ósea con LPS. Puesto que la actividad tumoricida de estas células se induce concomitantemente con la síntesis de los factores B y C3 del complemento, estos productos pueden servir como marcadores para el estado citocida. Por el contrario, la producción de la enzima lisosomal β -glucoronidasa, la cual es inhibida con la inducción del estado citocida, se aumenta en forma significativa cuando los mismos macrófagos derivados de médula ósea son activados con un estímulo inflamatorio, originado por el β -glucano, sugiriendo que la expresión abundante de enzimas lisosomales se puede considerar como un marcador de macrófagos inflamatorios.

Estos ejemplos, en conjunto, ilustran que la actividad secretoria de los macrófagos, por un lado, cambia dependiendo del estímulo y por el otro lado, puede servir como marcador fenotípico para diferentes estadios celulares funcionales. Sin embargo, la correlación de un patrón secretor particular con ciertos estadios en el desarrollo del macrófago puede ser difícil. Es el caso de la expresión y secreción de las enzimas lisosomales, las cuales se pensaba que eran características constitutivas de macrófagos maduros, independiente de su estado de activación; sin embargo, posteriormente se demostró que la expresión de genes que codifican por lisozimas aumenta progresivamente con la maduración del macrófago. Actualmente se acepta que la expresión y secreción de

lisozimas es un marcador de activación de macrófagos más que un marcador general de macrófagos que se expresa en forma constitutiva.

Varios estudios correlacionan la presencia de ciertas poblaciones de macrófagos con algunas enfermedades. Macrófagos humanos que expresan una molécula no definida detectada por el Ac monoclonal 27E10 son observados en exudado inflamatorio de casos de dermatitis de contacto, gingivitis y psoriasis, pero están ausentes en inflamación crónica originada por osteoartritis, lepra tuberculoide y artritis reumatoidea. En transplantes humanos de hígado, corazón y riñón, se observa una fuerte infiltración de macrófagos positivos para 27E10 que se asocia con rechazo agudo, mientras que el fenotipo RM3/1+ se asocia con un curso clínico no complicado. La acumulación de macrófagos 25F9+ se correlaciona con progresión de tumores y pobre pronóstico. Estos estudios sugieren que el análisis fenotípico de las subpoblaciones de macrófagos puede ser de gran ayuda diagnóstica, a pesar que el papel específico de estas poblaciones de macrófagos no es claro.

En conclusión, podemos decir que el patrón de productos secretados puede servir como un marcador fenotípico de macrófagos que expresan propiedades heterogéneas. Es más, el desarrollo de las células mononucleares fagocíticas es tan complejo que cualquier cambio en el perfil de productos secretados no puede dejar de ser interpretado en términos de maduración, diferenciación o activación específica.

Heterogeneidad funcional de las células mononucleares fagocíticas

La heterogeneidad fenotípica discutida previamente refleja la amplia heterogeneidad funcional que existe entre las poblaciones de células mononucleares fagocíticas de la línea monocitos/macrófagos. La gran versatilidad y diversi-

dad de estas células, está claramente indicada por las diferentes funciones que ellas realizan y por su participación en “todas” las etapas de la respuesta inmune.

La función de los macrófagos depende en parte de las señales recibidas del microambiente que los rodea; por lo tanto, la heterogeneidad funcional puede originarse de las condiciones particulares que posea un tejido específico. Es así como, estudios realizados tanto *in vivo* como *in vitro*, han sugerido que ciertos estímulos pueden inducir poblaciones de macrófagos que expresan una función efectora, pero no otra. Lo anterior implica que cualquiera que sea la función expresada por un macrófago (actividad tumoral versus actividad microbicida), está dada por el estímulo recibido y que las células efectoras generadas, luego de la estimulación, son diferentes con respecto a su función. Sin embargo, la mayoría de estos estudios son limitados en cuanto a número de tejidos y funciones evaluadas.

Dado que los macrófagos son responsables de numerosos procesos inflamatorios, es importante distinguir entre hematopoyesis normal y hematopoyesis inducida asociada a estímulos inmunológicos. Como ya se mencionó, la producción de macrófagos, a partir de progenitores de médula ósea, es un proceso controlado por el M-CSF, citoquina que es producida en forma constitutiva por diferentes células. En respuesta a estímulos invasivos e inflamación, el número de monocitos aumenta al igual que aumentan los niveles séricos de M-CSF; además, el GM-CSF aparece en el suero. Aunque al parecer algunos precursores de los macrófagos son capaces de responder al M-CSF o al GM-CSF, las diferentes estructuras y mecanismos de señalización intracelular a través de los receptores para el M-CSF y el GM-CSF sugieren que las vías de diferenciación que ellas inician son muy diferentes. De esta forma, los macrófagos derivados por la acción del

M-CSF son más grandes, poseen una alta capacidad fagocítica y son altamente resistentes a la infección por ciertos patógenos, como el virus de la estomatitis vesicular en comparación con los macrófagos derivados en respuesta al GM-CSF. Por el contrario, los macrófagos derivados en respuesta al GM-CSF presentan mayor actividad citotóxica contra blancos tumorales resistentes al TNF- α , expresan más moléculas del CMH clase II, matan más eficientemente patógenos como *Listeria monocytogenes* y secretan más PGE₂.

Aún cuando la capacidad fagocítica es una propiedad general de los macrófagos, esto no significa que todos los macrófagos son similares en este aspecto. Primero, varias subpoblaciones expresan en forma diferencial los receptores involucrados en el proceso de fagocitosis. Segundo, la actividad fagocítica está influenciada por factores externos como la IL-1, el TNF- α y varias proteínas de la matriz extracelular que aumentan la función fagocítica, mientras que la adenosina y el AMP cíclico inhiben la fagocitosis.

La capacidad de los macrófagos para regular y participar en los procesos inflamatorios, es otra de las funciones efectoras en la cual se observa heterogeneidad. Dicha heterogeneidad depende por un lado, del estadio de la respuesta inflamatoria. Es así como, la respuesta inflamatoria temprana, que ocurre alrededor de 24 horas después del daño, esta mediada por monocitos circulantes marginados que rápidamente entran al tejido como macrófagos inflamatorios. Esta respuesta probablemente está influenciada por productos de los neutrófilos. Mucho más tarde, quizás 2–4 días después de una respuesta inflamatoria aguda y durante la resolución de la lesión y depuración de los detritos, estas mismas células pueden estar involucradas, pero pueden ser funcionalmente diferentes: por ejemplo, pueden comportarse más como células “basureras” que como inductoras de in-

flamación aguda y por ende pueden no ser capaces de participar en la respuesta inflamatoria temprana. En forma similar, durante procesos complejos tales como la cicatrización, las células involucradas en disolver la fibrosis o en la formación de cicatrices son funcionalmente distintas de los monocitos/macrófagos inflamatorios que arribaron inicialmente al sitio de la lesión. Sin embargo, aún se desconoce si estas alteraciones funcionales se deben a cambios en el microambiente local, a cambios en los procesos de maduración de los macrófagos o a cambios inducidos por citoquinas autocrinas. Muchos mediadores derivados de macrófagos, involucrados en estos procesos, han sido descritos y caracterizados. Por ejemplo, el FGF y el TGF- β estimulan el crecimiento de fibroblastos y la síntesis de colágeno, mientras que el TNF- α induce la angiogénesis. Otro ejemplo de heterogeneidad de macrófagos en la respuesta inflamatoria lo constituyen las citoquinas producidas cuando la reacción inflamatoria crónica conduce a la formación de granuloma versus fibrosis. Adicionalmente, la ubicuidad de los macrófagos con funciones heterogéneas en todas las etapas de la respuesta inflamatoria sugiere que estas células juegan papeles decisivos en la regulación de la inflamación. Por su parte, la actividad tumoricida contra blancos sensibles a TNF- α es mucho mayor para macrófagos alveolares que para otras poblaciones de macrófagos, probablemente debido a una baja secreción de TNF- α por parte de los macrófagos alveolares.

La producción de poblaciones de macrófagos funcionalmente diferentes le permite al sistema inmune innato tener una mayor flexibilidad para responder a estímulos inmunológicos o inflamatorios. Es probable que la naturaleza de una respuesta inmune sea dictada en gran parte por el(los) fenotipo(s) funcional(es) de los macrófagos presentes en una lesión. La existencia de distintas subpoblaciones de células Th también sugiere que el predominio de una

subpoblación de células Th1 o Th2 puede a su vez favorecer la producción o activación de una subpoblación de macrófagos en particular. Además, la producción y regulación de citoquinas durante la respuesta inflamatoria constituye un determinante clave, tanto en la resolución del estímulo como en la limitación del daño tisular. De aquí que la aparición secuencial dentro de las lesiones inflamatorias permite la respuesta más apropiada. El análisis de la producción temporal de citoquinas, durante la respuesta inmune sugiere que diferentes poblaciones de macrófagos participan en diferentes estadios o que las condiciones cambiantes, dentro de la lesión, afectan diferencialmente las funciones de distintas poblaciones de macrófagos.

Origen de la heterogeneidad de las células mononucleares fagocíticas

Existen cuatro teorías que tratan de explicar la generación de fagocitos mononucleares con diferentes características fenotípicas y funcionales pero el tema sigue siendo objeto de estudio.

- 1) Las células difieren en su estado de maduración. En este sentido, los monocitos/macrófagos en desarrollo, atraviesan diferentes estadios funcionales y fenotípicos. Así por ejemplo, la maduración *in vitro* de monocitos de sangre periférica a macrófagos, coincide con la expresión de CD16 y CD51. Otras características tales como la capacidad para responder, al estímulo generado por el MIF, y producir PAF e IFN, aparece inicialmente pero desaparece en estadios de desarrollo tardíos. Así mismo, luego de la maduración de monocitos a macrófagos se pierde la actividad citocida. La diferenciación de monocitos, *in vitro*, da como resultados cambios en la morfología y en la expresión de moléculas de membrana características de macrófagos residentes. Los cambios incluyen disminución en la transcripción de c-fms, aumento en la expre-

sión de C2, factor B y fibronectina, aumento en la producción de TNF- α y de neopterinina.

- 2) Las células son estimuladas diferencialmente por agentes ambientales para realizar diferentes funciones. Esto implica que la activación es necesaria para capacitar a la célula para realizar ciertas funciones. De esta forma, la activación no sería un evento simple y lineal, pues dependiendo del estímulo particular se determina el fenotipo y por ende la función. Por ejemplo, se demostró que la inducción de un estado citocida por la poli(I:C) hace a los macrófagos refractarios a la inducción de un estado inflamatorio por el β -glucano y viceversa. Este fenotipo inflamatorio es tipificado por la expresión aumentada de β -glucuronidasa y la cadena β del PDGF, mientras que las características fenotípicas del estado citocida incluye la síntesis de los factores B y C3 del complemento.

Es muy notorio que el desarrollo del estado inflamatorio y tumoricida, al parecer, ocurre en dos pasos secuenciales, pero involucra diferentes estímulos: la inducción de actividad tumoricida involucra, primero, la sensibilización de los macrófagos "respondedores" por citoquinas como IFN- γ o IFN- β que comienzan a ser "sensibilizados"; luego, una señal de activación, como por ejemplo el LPS, estimula la activación. Por su parte, el desarrollo de células inflamatorias también involucra un proceso similar de dos pasos, pero en la sensibilización participan mediadores como el LKTC4 y el LKTB4. En resumen, dado que existen diferentes vías de activación, en las cuales participan diferentes factores, la posibilidad de heterogeneidad fenotípica y funcional es muy grande.

- 3) Las células pertenecen a diferentes precursores mieloides que dan origen a distintas subpoblaciones de fagocitos mononucleares

maduros. Una evidencia que sustenta esta hipótesis, es el hecho que células precursoras de macrófagos, aisladas ya sea de bazo o médula ósea, así como su progenie madura difieren sustancialmente en la actividad citocida y en la selectividad de la célula blanco. Adicionalmente, los monocitos de sangre periférica experimentan las mismas condiciones ambientales mientras están en circulación donde permanecen menos de 72 horas para luego pasar a los tejidos donde generan diferentes estados de maduración, lo que sugiere que la heterogeneidad existe antes de la liberación de los monocitos de médula ósea, debido quizás a la existencia de distintos progenitores.

- 4) Las células pertenecen a poblaciones separadas e independientes y son mantenidas por proliferación local o por el influjo de monocitos de sangre periférica. Algunas evidencias sugieren que la presencia de macrófagos residentes en los tejidos es mantenida por proliferación, ya sea de los mismos macrófagos residentes o de precursores presentes en dicho compartimento y no directamente de las células precursoras presentes en médula ósea o en sangre, mientras que otros autores sugieren que la población de macrófagos residentes se origina tanto por proliferación local como por influjo de monocitos a partir de sangre periférica.

Es claro, entonces, que los macrófagos son altamente heterogéneos para una amplia variedad de funciones, incluyendo la expresión de moléculas de superficie, la producción de citoquinas y otros factores solubles, y la eliminación de organismos patógenos. Por lo tanto, sería más apropiado hablar de poblaciones o aún de subpoblaciones de macrófagos. La comprensión de los eventos que dirigen el desarrollo de las diferentes subpoblaciones de macrófagos, al igual que la interacción de dichas subpoblaciones con otros tipos de células, parti-

cularmente subpoblaciones de células Th durante la respuesta inflamatoria, representa un pilar de investigación importante en inmunología.

CONCLUSIONES

Los monocitos/macrófagos son fundamentales para el desarrollo de la respuesta inmune, en la que participan, no solo como células efectoras sino también como reguladoras. Son células muy activas y tienen una amplia distribución en los tejidos, donde pueden participar, además, en otros procesos de interacción celular y de homeostasis. Su especialización es la fagocitosis y la secreción de abundantes citoquinas que dirigen diferentes procesos biológicos

y tienen lugar durante la respuesta inmune; además, responden a mediadores de la inflamación aguda y crónica, y secretan proteasas y factores de crecimiento que son importantes en la reparación de tejidos. Dependiendo de la naturaleza del Ag, los macrófagos pueden procesarlo y presentarlo al LT modulando la respuesta inmune. Todas estas características enfatizan la versatilidad que poseen estas células; los macrófagos son multipotenciales, en la medida en que pueden desarrollar una variedad de características dependiendo de la naturaleza de las señales que ellos reciben. Así mismo, los mecanismos que permiten que se exprese una u otra función, o incluso funciones combinadas, se han convertido en un reto actual para la investigación en inmunología.

LECTURAS RECOMENDADAS

- Boehm U, Klamp T, Groot M, Howard JC. Cellular responses to interferon-gamma. *Ann Rev Immunol* 1997;15:749-95.
- Burke B, Lewis C (eds). *The macrophage*. Second edition. Oxford University Press Inc. New York. 2002. 635 pp.
- Fleming SD, Campbell PA. Some macrophages kill *Listeria monocytogenes* while others do not. *Immunol Rev* 1997;158:69-77.
- Horton MA (ed). *Macrophages and Related Cells*. Blood Cell Biochemistry, Volume 5. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 1993. 454 pp.
- Hume DA, Ross IL, Himes SR, Sasmono RT, Wells CA, Ravasi T. The mononuclear phagocyte system revisited. *J Leukoc Biol* 2002;72(4):621-7
- Ma X, Sun J, Pappasavvas E, Riemann H, Robertson S, Marshall J, Bailer RT, Moore A, Donnelly RP, Trinchieri G, Montaner LJ. Inhibition of IL-12 production in human monocyte-derived macrophages by TNF. *J Immunol*. 2000;164(4):1722-9
- Montaner LJ, da Silva RP, Sun J, Sutterwala S, Hollinshead M, Vaux D, Gordon S. Type 1 and type 2 cytokine regulation of macrophage endocytosis: differential activation by IL-4/IL-13 as opposed to IFN-gamma or IL-10. *J Immunol*. 1999;162(8):4606-13
- Taylor PR, Gordon S. Monocyte heterogeneity and innate immunity. *Immunity*. 2003;19(1):2-4
- Underhill DM, Ozinsky A. Phagocytosis of microbes: complexity in action. *Ann Rev Immunol*. 2002;20:825-52.
- Underhill DM. Toll-like receptors: networking for success. *Eur J Immunol* 2003;33(7):1767-75
- Vadiveloo PK. Macrophages proliferation, activation, and cell cycle proteins. *J Leukoc Biol* 1999;66(4):579-82
- van Furth R. *Mononuclear Phagocytes: Biology of Monocytes and Macrophages*. Kluwer (Ed). 1992. 668 pp.
- van Furth R. Human monocytes and cytokines. *Res Immunol* 1998;149(7-8):719-20
- Xaus J, Comalada M, Valledor AF, Cardo M, Herro C, Soler C, Lloberas J, Celada A. Molecular mechanisms involved in macrophage survival, proliferation, activation or apoptosis. *Immunobiology* 2001;204(5):543-50