

REVISIÓN DE TEMA

Las quimioquinas: citoquinas proinflamatorias y reguladoras del tráfico celular

NANCY F. CANO, CARLOS J. MONTOYA

LAS QUIMIOQUINAS CONSTITUYEN UN GRUPO NUMEROSO de citoquinas proinflamatorias; hasta el momento se han caracterizado alrededor de 40 quimioquinas diferentes que provienen de variadas fuentes celulares y tienen acciones muy pleiotrópicas. Su estudio ha despertado gran interés debido a la selectividad que tienen para activar y dirigir el tráfico de diferentes subpoblaciones de leucocitos, a diferencia de otros factores quimiotácticos que atraen por igual a los neutrófilos y monocitos. Adicionalmente, se ha observado que las quimioquinas están involucradas en la hematopoyesis, angiogénesis, morfogénesis tisular, crecimiento tumoral y apoptosis.

Debido a que las quimioquinas orquestan la migración y función de los leucocitos, se ha propuesto que cumplen un papel muy importante en la fisiopatología de algunas enfermedades como la glomerulonefritis inducida por inmunocomplejos, la isquemia reperfusión, la aterosclerosis, la infección por el VIH y algunas reacciones autoinmunes.

.....
NANCY FANORY CANO LONDOÑO, Odontóloga, Universidad de Antioquia; CARLOS JULIO MONTOYA GUARÍN, MD, MSc, Profesor Centro de Investigaciones Médicas, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia

Correspondencia: Nancy Fanory Cano, Laboratorio de Inmunología, Carrera 51 D No. 62-29, oficina 206, Facultad de Medicina – Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia, Teléfono: 510 60 57; Fax: 263 35 09

PALABRAS CLAVE

QUIMIOQUINAS

CIRCULACIÓN DE LOS LEUCOCITOS

ACTIVACIÓN CELULAR

INTRODUCCIÓN

DURANTE LAS REACCIONES INFLAMATORIAS, las cuales son iniciadas por una amplia variedad de estímulos exógenos y endógenos, los leucocitos migran a través de las paredes de los vasos sanguíneos hacia el tejido extravascular donde ejercen gran variedad de funciones biológicas. También pueden salir de la circulación bajo condiciones fisiológicas como parte de su función de vigilancia. En ambas migraciones, tanto la inflamatoria como la homeostática, algunas citoquinas con funciones muy específicas controlan la activación y el aflujo de estas células (1).

Desde 1986 un amplio número de citoquinas estrechamente relacionadas, que se especializan en activar y atraer leucocitos hacia los sitios de daño, han sido identificadas, clonadas y secuenciadas. Inicialmente se clasificaron como citoquinas quimiotácticas; hoy se sabe que cumplen además funciones importantes en la proliferación y apoptosis de diferentes células, la morfogénesis tisular, la hematopoyesis, la angiogénesis (2) y en el desarrollo de respuestas inmunes específicas, induciendo el tráfico de las células dendríticas, los linfocitos Th1, Th2 y B en el tejido linfoide secundario, lo cual contribuye a la ubicación celular en diferentes localizaciones anatómicas (2,3). Generalmente no inducen la producción de otras citoquinas, no generan fiebre ni son reactantes de fase aguda.

Las quimioquinas constituyen el grupo más diverso y numeroso de citoquinas; son expresadas por gran

variedad de células en respuesta a diferentes estímulos como: citoquinas, irritantes, antígenos y estímulos policlonales (4).

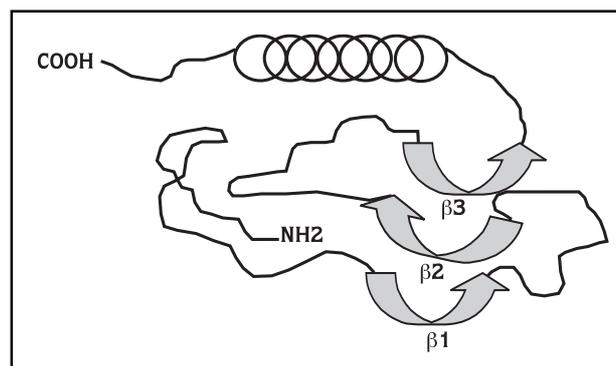
ESTRUCTURA

ESTAS PROTEÍNAS TIENEN UN PESO MOLECULAR de 8 a 15 KDa (2); todas son dímeros, excepto el PF-4 que es un tetrámero; sin embargo, la mayoría actúan fisiológicamente como monómeros.

Todas las quimioquinas son estructuralmente similares; tridimensionalmente presentan tres láminas plegadas β conectadas por asas (denominadas $\beta 1$, $\beta 2$ y $\beta 3$), un asa en la región NH2 terminal y una hélice α en el dominio C-terminal (Figura 1A). Su extremo carboxilo es de carácter básico y tiene afinidad para unirse a compuestos de tipo heparina, glicosaminoglicanos y moléculas de azúcar cargadas negativamente que se encuentran en la superficie celular y la matriz extracelular.

Figura N° 1A

QUIMIOQUINAS: ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL



Son polipéptidos con un dominio tipo quimioquina (Figura 1B): la mayoría presenta cuatro cisteínas

en posiciones altamente conservadas, unidas entre sí por puentes disulfuro, excepto las γ quimioquinas que presenta dos cisteínas conservadas y un solo puente disulfuro (5). Dependiendo del número y la secuencia de estas cisteínas en el dominio aminoterminal, las quimioquinas se dividen en 4 subfamilias, α , β , γ , y δ , también denominadas, respectivamente, como CXC (debido a que las dos cisteínas cercanas al N-terminal están separadas por un aminoácido simple), las CC (las dos cisteínas están adyacentes), las C y las CX3C.

La subfamilia CX3C tiene un solo miembro llamado fractalquina o neurotactina, es la única quimioquina de membrana y posee una región rica en mucina de 240 aminoácidos (Figura 1B); se expresa en la membrana de las células endoteliales y está implicada en la adherencia y quimiotaxis de los monocitos y linfocitos T. Además, presenta tres aminoácidos entre las dos primeras cisteínas (2,6). Todos los miembros de estas subfamilias son producidos como precursores inactivos, clivados enzimáticamente dentro de las células y secretados en forma activa (4).

Figura Nº 1B

**SUBFAMILIAS DE QUIMIOQUINAS:
ESTRUCTURA BÁSICA**

QUIMIOQUINAS α (CXC)	QUIMIOQUINAS β (CC)
 <p>Interleuquina 8</p>	 <p>RANTES</p>
QUIMIOQUINAS γ (C)	QUIMIOQUINAS δ (CX3C)
 <p>Linfotactina</p>	 <p>Fractalquina</p>

QUIMIOQUINAS α

La subfamilia de quimioquinas CXC comprende dos grupos: las que tienen 3 aminoácidos, ELR (ácido glutámico-leucina-arginina), entre el N-terminal y la primera cisteína, y las que no poseen la secuencia ELR. Esta secuencia corta de aminoácidos parece ser necesaria, aunque no suficiente, para aquellas quimioquinas que activan y estimulan los neutrófilos (7,8) y se sugiere que es esencial para la unión y activación de sus receptores (CXCR1 y CXCR2) (9). Las quimioquinas CXC que poseen ELR son la IL-8, GRO (α , β , γ), ENA-78, GCP-2 y NAP-2; son potentes quimioatrayentes y activadoras de los neutrófilos, y además muy angiogénicas. Otras son CTAP-III y β -Tromboglobulina, pero no tienen actividad quimioatrayente sobre los neutrófilos a pesar de la presencia de ELR.

Las quimioquinas CXC no ELR son BCA-1, PF-4, PBP, IP-10, MIG, I-TAC, SDF-1 α y SDF-1 β ; activan a otras células, específicamente linfocitos T y monocitos, y son además angiostáticas (5).

Las fuentes celulares de las α quimioquinas son muy diversas e incluyen: monocitos, macrófagos, queratinocitos, fibroblastos, hepatocitos, neutrófilos, eosinófilos, astrocitos, plaquetas, linfocitos T, B y NK, endotelio, células epiteliales y células de melanoma (Tabla 1).

Las células blanco de las quimioquinas CXC son: neutrófilos, fibroblastos, basófilos, condrocitos, linfocitos B, células del músculo liso, linfocitos T, endotelio, células NK, monocitos, queratinocitos, megacariocitos y células de melanoma.

Estas citoquinas inducen gran variedad de efectos biológicos como: quimiotaxis de diferentes células (neutrófilos, linfocitos T, monocitos, basófilos); acti-

vación y proliferación celular; regulación de la angiogénesis (positiva o negativa); modulación de la hematopoyesis (positiva o negativa); inducen la

liberación de histamina y la síntesis de glicosaminoglicanos y colágeno por los fibroblastos (10).

Tabla Nº 1
FUENTES CELULARES, CÉLULAS BLANCO Y EFECTOS BIOLÓGICOS DE LAS QUIMIOQUINAS α (CXC)

QUIMIOQUINAS	FUENTES CELULARES	CÉLULAS BLANCO	EFECTOS BIOLÓGICOS
<u>Tipo ELR (+)</u> IL-8 GRO (α , β , γ) GCP-2 ENA-78 NAP-2 β -Tromboglobulina CTAP-III	Monocitos-macrófagos Linfocitos T y NK Plaquetas-megacariocitos Queratinocitos Fibroblastos Células endoteliales Neutrófilos Linfocitos B Eosinófilos	Neutrófilos Fibroblastos Linfocitos T Endotelio Basófilos Células NK Células tallo hematopoyéticas Monocitos Linfocitos B	Estímulo de la quimiotaxis Activación celular Angiogénesis Proliferación celular Aumento en la síntesis de glucosaminoglicanos Liberación de histamina Crecimiento de fibroblastos
<u>Tipo ELR (-)</u> BCA-1 IP-10 I-ITAC MIG PF-4 PBP SDF-1 LIX	Hepatocitos Astrocitos Células epiteliales Células sinoviales Células de músculo liso	Condrocitos Queratinocitos Células de músculo liso Megacariocitos	Regulación del crecimiento de las células hematopoyéticas

La IL-1 y el TNF- α son los mayores estimulantes para la producción de las quimioquinas CXC ELR+, en tanto que el IFN- γ estimula la secreción de las CXC ELR- y tiene un efecto inhibitor sobre las que tienen el motivo ELR.

Dentro del grupo de las quimioquinas CXC ELR+ la más representativa es la IL-8, conocida también como proteína activadora de neutrófilos-1 (NAP-1); se encuentra en dos formas, una corta más abun-

dante que consta de 72 aminoácidos, y una larga de 77 aminoácidos llamada IL-8 endotelial por ser producida por las células endoteliales. Esta última, con actividad quimiotáctica *in vivo* similar a la forma corta, puede estar involucrada en la adherencia del neutrófilo al endotelio como un prelude de la diapédesis (5,11).

La IL-8 es producida por una amplia variedad de células incluyendo monocitos, macrófagos,

fibroblastos, linfocitos T, células endoteliales, epiteliales y los neutrófilos (5). In vitro, estas últimas células expresan IL-8 al ser estimuladas con lipopolisacáridos (LPS) o con citoquinas proinflamatorias como IL-1 o TNF- α (12,13). Debido a que la IL-8 es una de las principales citoquinas producidas por los neutrófilos, se sugiere que ejerce un efecto autocrino que los lleva a perpetuar su activación. Además, se ha encontrado que durante la activación celular y específicamente durante la quimiotaxis, los neutrófilos modulan la expresión de esta proteína, lo cual es regulado principalmente por un aumento en la traducción del ARNm presente en las células en reposo, más que por un control transcripcional (14).

La IL-8 tiene actividad angiogénica (5,6), y se ha encontrado que puede activar in vitro a otras células como basófilos y linfocitos T (5,7). Sin embargo, la acumulación in vivo de linfocitos T puede ser una consecuencia de la serie de eventos que siguen a la acumulación y degranulación de los neutrófilos (13); de esta forma, la liberación de defensinas, CAP37/azurocidina y catepsina G, puede llevar al reclutamiento de células T, monocitos y neutrófilos adicionales. Las defensinas y la catepsina G son mitógenas para los linfocitos T, aumentan la producción de IFN- γ e IL-4 y promueven la producción in vivo de anticuerpos en respuesta a un estímulo antigénico. De esta manera, quimioquinas como la IL-8, por medio de la degranulación de los neutrófilos, pueden iniciar una cascada inmunestimuladora que ayuda a convertir una respuesta innata en una respuesta específica (4).

Otras propiedades atribuidas a la IL-8 incluyen la inducción de la expresión rápida de integrinas LFA-1 sobre el neutrófilo y la activación de su ligando, al igual que de la L-Selectina; induce también la liberación de enzimas y de metabolitos derivados del oxígeno (12,13), estimula la inducción de IL-1 y de

IL-1Ra in vivo (13) y por último, estimula la liberación de histamina por los basófilos (5).

Se ha observado in vivo que la neutralización con anticuerpos de conejo dirigidos contra la IL-8, y las proteínas GRO y MIP-2, reduce significativamente la inflamación mediada por neutrófilos en varios modelos de inflamación aguda (15). Se propone entonces que la IL-8, además de otras quimioquinas, puede tener un papel importante en la patogénesis de la respuesta inflamatoria (13).

Otra quimioquina CXC importante es GRO- α , conocida también como MGSA o actividad estimuladora de crecimiento de melanoma, por sus efectos mitógenos sobre las líneas celulares de este tumor. Es secretada por células mononucleares junto con la IL-8, y tiene además similar potencia para activar los neutrófilos. Así, la administración intradérmica de IL-8 humana induce una rápida infiltración de neutrófilos dependiente de la concentración, que llega a su pico 4 horas después de la aplicación; la inyección de GRO- α induce una respuesta quimiotáctica similar a la IL-8, mientras que la NAP-2 (también activadora y quimioatrayente para los neutrófilos) es significativamente menos activa (16). Además, in vitro se ha observado que la IL-8 es más potente que la GRO- α y la NAP-2 en inducir la activación de la fosfolipasa D, en la expresión de CD11b/CD18 (MAC-1) y en la inducción de la quimiotaxis bajo agarosa (17).

ENA-78 fue aislada originalmente de células epiteliales pulmonares humanas estimuladas con IL-1 (18); los fibroblastos y macrófagos de tejido sinovial de pacientes con artritis reumatoidea también producen niveles significativos in vitro al ser estimulados con TNF- α (19). Recientemente se ha encontrado que también se expresa en células endoteliales de pulmón humano inflamado y de otros tejidos. ENA-78 muestra características comunes

con la IL-8 y una actividad biológica similar, aunque en una proporción de 5 a 10 veces menor. Se le atribuye la habilidad de inducir la adhesión y migración de neutrófilos (20), además de regular la expresión de MAC-1 sobre la superficie celular de los neutrófilos (21). Su inducción en cultivos de células epiteliales de colon humano mostró un patrón prolongado con respecto a la IL-8, y se propone que puede ser importante en el reclutamiento de neutrófilos en la lámina propia dentro de la capa epitelial (22).

QUIMIOQUINAS β

LA SUBFAMILIA DE QUIMIOQUINAS CC es la más numerosa y comprende, entre otras, las citoquinas MCP-1 a 4, MIP-1 α y β , RANTES, eotaxina-1 y 2, I-309, HCC-1 y 2, TARC, PARC, TECK y MIP-3 α y β . Éstas son especialmente quimioatrayentes de monocitos y linfocitos T, aunque también actúan sobre eosinófilos, basófilos, células dendríticas, linfocitos B, timocitos, NK, progenitores mieloides y megacariocitos (2) (Tabla 2).

Tabla N° 2

FUENTES CELULARES, CÉLULAS BLANCO Y EFECTOS BIOLÓGICOS DE LAS QUIMIOQUINAS β (CC)

QUIMIOQUINAS	FUENTES CELULARES	CÉLULAS BLANCO	EFECTOS BIOLÓGICOS
CK β 6-c-kine DC-CK1 Eotaxinas 1 y 2 HCC 1 y 2 I-309 MCP-1 al 4 MIP-1 α y β MIP-3 α y β MIP-5 PARC RANTES SLC STCP TARC TECK MIP-1 γ	Monocitos Células endoteliales Células dendríticas Células epiteliales Linfocitos T Mastocitos Macrófagos Hepatocitos Eosinófilos Fibroblastos Células de músculo liso Basófilos Células NK Plaquetas Células epiteliales tónicas	Linfocitos T Monocitos Células dendríticas Basófilos Eosinófilos Células NK Células tallo hematopoyéticas Linfocitos B Megacariocitos	Estímulo de la quimiotaxis Regulación del crecimiento de las células hematopoyéticas Activación células endoteliales Activación eosinófilos, basófilos y NK Modulación de apoptosis Aumento en la síntesis de IgE e IgG4 Degranulación y liberación de enzimas Diferenciación a fenotipo Th1 – Th2

Las fuentes celulares de las quimioquinas β son muy diversas, entre ellas las siguientes: monocitos, macrófagos, células dendríticas, eosinófilos, fibro-

blastos, células NK, endotelio, células epiteliales, mastocitos, hepatocitos, linfocitos T, basófilos, plaquetas y células epiteliales tónicas.

Entre sus efectos biológicos se encuentran: son quimiotácticas para linfocitos T, monocitos, eosinófilos, basófilos, células NK y células dendríticas; inducen la activación del endotelio, los eosinófilos, basófilos y células NK; regulan la degranulación y liberación de enzimas por las células NK y T citotóxicas; modulan la apoptosis; controlan el crecimiento de las células hematopoyéticas; modulan la diferenciación de las células T hacia un fenotipo Th1 o Th2 y aumentan la producción de Ig E e Ig G4.

La MCP-1 (proteína quimioatrayente para monocitos-1) fue la primera en ser purificada en un medio de cultivo celular de músculo liso aórtico de babuino, y se comprobó *in vitro* su habilidad para atraer monocitos pero no neutrófilos. La versión humana de MCP-1 (también llamada MCAF) fue aislada poco después de líneas celulares de tumor.

La MCP-1 induce la expresión de las integrinas requeridas para la quimiotaxis; tiene acción sobre los monocitos, linfocitos T de memoria, basófilos y células NK; induce la liberación de gránulos por las células NK y los linfocitos T CD8+; es potente inductora de la liberación de histamina por los basófilos y no atrae eosinófilos, en comparación con MCP-2 y 3.

RANTES es inducible por mitógenos o antígenos en una variedad de líneas de células T y linfocitos circulantes. *In vitro* es un potente quimioatrayente de monocitos, como la MCP-1, pero es mucho menos efectivo para estimular la exocitosis. Atrae también linfocitos T CD45RO+, CD4+, NK, eosinófilos, y es el más potente quimioatrayente para células CD8+; también induce la liberación de histamina (4).

Existen una quimioquinas CC fundamentales en la organización del tejido linfoide, pues regulan el tráfico y la ubicación de los linfocitos T y B en estos sitios; las caracterizadas por esta función son TARC, PARC, LARC, ELC (MIP-3 α) y SLC (MIP-3 β).

La quimioquina DC-CK1 (quimioquina 1 de las células dendríticas) atrae selectivamente los linfocitos T CD45RA+ y contribuye de esta manera a la inducción de la respuesta inmune primaria.

QUIMIOQUINAS γ y δ

LAS QUIMIOQUINAS C SON UN GRUPO CONFORMADO por la linfotactina y el SCM-1 (motivo C solitario); las células que las producen son los linfocitos T CD8+, timocitos, mastocitos y células NK. Actúan principalmente sobre linfocitos T y células NK, induciendo su activación y quimiotaxis (2,10) (Tabla 3).

Tabla N° 3

FUENTES CELULARES, CÉLULAS BLANCO Y EFECTOS BIOLÓGICOS DE LAS QUIMIOQUINAS γ (CC) Y δ (CX3C)

QUIMIOQUINAS	FUENTES CELULARES	CÉLULAS BLANCO	EFECTOS BIOLÓGICOS
<u>C</u> Linfotactina SCM-1	Linfocitos T CD8+ Linfocitos T gd Timocitos Células NK Mastocitos	Linfocitos T y B Células NK	Estímulo de la quimiotaxis Activación de células endoteliales
<u>CX3C</u> Fractalquina	Células endoteliales	Monocitos Linfocitos T	Adherencia al endotelio Quimiotaxis

La única quimioquina CX3C, conocida como fractalquina o neurotactina, posee varias regiones: un extremo aminoterminal tipo quimioquina, una larga extensión tipo mucina con repeticiones serina-treonina, muchos polisacáridos laterales, una región transmembrana y un corto dominio citoplasmático (2). Su única fuente celular descubierta hasta el momento es el endotelio. Las células blanco son los linfocitos T y los monocitos, en los que estimula la adherencia al endotelio y la quimiotaxis (Tabla 3).

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE QUIMIOQUINAS

COMO SE HA DESCRITO, existe una gran diversidad en las células que secretan las diferentes quimioquinas, y son las condiciones particulares del microambiente en el que se desarrolla una respuesta inmune las que generalmente determinan cuáles son secretadas (tipo de inflamación y de células infiltrantes). La mayoría de ellas se producen en respuesta a estímulos proinflamatorios e inmunomoduladores. Sin embargo, la expresión constitutiva del ARNm para algunas quimioquinas ha sido demostrada en tejidos particulares; en el intestino delgado se ha encontrado ARNm para eotaxina, sugiriendo su papel en la defensa contra los parásitos; el MCP-4 se ha hallado en el pulmón y el corazón; MDC en timo, pulmón y bazo, y TARC en el tejido linfoide.

Algunas citoquinas con actividad proinflamatoria como la IL-1 y el TNF- α son potentes inductoras de la expresión de las CC y CXC en gran variedad de células (5). El IFN- γ aumenta la producción de RANTES, MCP-4 y eotaxina, mientras que la IL-4 y la IL-13 aumentan la expresión de eotaxina. La IL-10 y el TGF- β disminuyen la producción general

de quimioquinas (2). El tratamiento crónico con glucocorticoides inhibe la expresión de RANTES, eotaxina, MCP-1, MCP-4 y MIP-1 α . La regulación negativa se hace en los niveles transcripcional y postranscripcional. La regulación transcripcional, dependiente de ADN, ocurre cuando el receptor del glucocorticoide unido a su ligando se fija directamente a secuencias de respuesta negativa (GRES) en las regiones promotoras del gen blanco. Alternativamente, los glucocorticoides pueden ejercer regulación por una vía independiente del ADN, alterando la unión de los factores transcripcionales a los elementos respondedores del ADN, por ejemplo el bloqueo de NF- κ B y AP-1.

En la regulación postranscripcional, los glucocorticoides aceleran la degradación de ARNm por la interacción con las secuencias AUREs del ARNm (Elementos Asociados al UTR del RNAm) y por otros mecanismos aún no conocidos. El ARNm para algunas quimioquinas es rico en AUREs: eotaxina, MCP-1, MIP-1 α e IL-8; éstas son secuencias presentes en el 3' UTR (Región no traducida localizada en extremo 3') y regulan la vida media del ARN, al acelerar su degradación por ribonucleasas (2).

RECEPTORES DE QUIMIOQUINAS

LOS RECEPTORES PARA LAS QUIMIOQUINAS y otros agentes quimioatrayentes pertenecen a la superfamilia de los receptores con 7 dominios transmembrana tipo serpina o rodopsina, la mayoría de ellos acoplados a proteína G, con tres asas intracelulares y tres extracelulares. Todos presentan un extremo N-terminal extracelular y un C-terminal intracelular (5,7). La porción intracelular carboxiterminal contiene residuos serina y treonina, los cuales son fosforilados y participan en la transducción de señales.

Todos tienen dos cisteínas conservadas, una en el dominio N-terminal y otra en la tercera asa extracelular, que se asume son encargadas de formar un puente disulfuro que es importante en la formación de un surco de unión con el ligando. La interacción entre la quimioquina y el receptor ocurre en el extremo aminoterminal y una de las asas extracelulares (5).

Estos receptores tienen una secuencia de aminoácidos única, DRYLAIV, en la segunda asa del dominio intracelular, que los hace diferentes de los demás receptores para otros quimioatrayentes (5).

La proteína G que está acoplada a dicho receptor es heterotrimérica (cadenas α - β - γ) y se encuentra unida a la segunda asa intracelular que contiene el motivo DRY (aspartato, arginina, tirosina); dicho motivo ha sido implicado en la transducción de señales. Cada receptor en particular se asocia con una proteína G específica, como por ejemplo $G\alpha_{12}$, $G\alpha_{14}$, $G\alpha_{15}$, etc.

Hasta la fecha, han sido clonados e identificados cinco receptores para la subfamilia CXC (CXCR1-5) y diez para la CC (CCR1-10) (2). Las quimioquinas muestran gran redundancia en la utilización de sus receptores; de esta manera, varias quimioquinas pueden acoplarse a un mismo receptor y una quimioquina puede ligarse a varios receptores. Por otro lado, los leucocitos, principalmente los activados, expresan múltiples receptores debido a la modulación por factores exógenos y endógenos, permitiendo así que en una misma célula la activación de sus receptores por quimioquinas diferentes produzca señales intracelulares distintas. Por lo anterior, se considera que las quimioquinas y otras citoquinas son pleiotrópicas en sus actividades (Tabla 4).

A veces, la unión quimioquina-receptor induce la internalización del complejo; este mecanismo es im-

portante en la patogénesis del VIH, proceso que es mediado por los receptores CCR5 y CXCR4, o por otros receptores en una manera dependiente de la cepa del virus (2).

Es importante considerar otro receptor para quimioquinas, el antígeno Duffy conocido también como DARC; éste tiene la capacidad de unir miembros de las subfamilias CXC y CC. La unión ligando-receptor origina la internalización pero no lleva a la transducción de señales; al parecer, el antígeno Duffy tiene un papel regulador similar al que se observa en CCR9, que consiste en impedir el daño inflamatorio mediado por las quimioquinas (2). Además, se considera útil para el transporte y depuración de éstas en la circulación (23). Este receptor se expresa en los glóbulos rojos, endotelio de vénulas postcapilares, células de Purkinje del cerebelo y linfocitos T activados.

Los dos receptores para la IL-8, CXCR1 y CXCR2 se expresan sobre los neutrófilos; ellos muestran un 77% de homología entre sus aminoácidos y sus genes se localizan en el cromosoma 2q-35. También se expresan en monocitos, basófilos y eosinófilos, pero las respuestas son mucho menos significativas que las de los neutrófilos (9); la presencia de estos receptores sobre las células T CD8(+) y CD26(-) es controversial, y las células endoteliales carecen de ellos (5). El receptor CXCR1 se une solamente a la IL-8 con alta afinidad; el CXCR2 tiene buena afinidad no sólo por la IL-8 sino también por GRO- α , NAP-2 y ENA-78 (5,15,21). Los neutrófilos pueden migrar ante bajas concentraciones de IL-8 debido al receptor CXCR2 y responden a altas concentraciones de IL-8 a través del CXCR1 (12).

Las quimioquinas CXC ELR+ tienen in vitro acciones redundantes sobre los neutrófilos, incluyendo estímulo de la quimiotaxis, cambios de forma, flu-

jos de calcio, degranulación y activación de la explosión respiratoria. Ambos receptores, CXCR1 y CXCR2, son capaces de activar las mismas funciones en los neutrófilos, y la vía quimiotáctica independientemente, como se ha observado en células Jurkat transfectadas. Sin embargo, estos receptores in vitro parecen ser regulados en forma diferente en los neutrófilos humanos, sugiriendo que ellos

podrían operar durante diferentes fases de la respuesta inflamatoria (15). El CXCR2 al parecer tiene un papel clave en el reclutamiento de los neutrófilos, mientras que el CXCR1 es importante en la mediación de señales hacia el sitio de la inflamación, es decir, exocitosis, polimerización de actina y cambios en el pH intracelular (24).

Tabla N° 4

RECEPTORES PARA LAS QUIMIOQUINAS: LIGANDOS Y EXPRESIÓN CELULAR

RECEPTOR	LIGANDOS	EXPRESIÓN CELULAR
<u>Receptores para CXC</u> CXCR1 CXCR2 CXCR3 CXCR4 CXCR5	IL-8, GCP-2, NAP-2 IL-8, GCP-2, NAP-2, GRO, ENA-78 IP-10, MIG, I-TAC SDF-1 BCA-1	Neutrófilo: CXCR1, CXCR2 Monocito: CXCR4 Linfocito T en reposo: CXCR4 Linfocito T activado: CXCR3 Linfocito B: CXCR3, CXCR4 Célula dendrítica: CXCR4 Célula NK: CXCR3
<u>Receptores para CC</u> CCR1 CCR2 CCR3 CCR4 CCR5 CCR6 CCR7 CCR8 CCR9 CCR10	HCC-2, MCP-2 y 3, MIP-1 α , MIP-5, RANTES MCP-1 al 4 Eotaxina 1 y 2, MCP 3 y 4, MIP-5, RANTES, HCC-2 MDC, TARC, RANTES, MCP-1, MIP-1 α MIP-1 α y β , RANTES MIP-3 α (LARC) MIP-3 β (ELC) I-309, MIP-1 β , TARC MCP-1, MCP-3	Linfocito T activado: CCR1, CCR2, CCR4, CCR5, CCR7 Linfocito B: CCR4, CCR5, CCR6, CCR7 Monocito: CCR1, CCR2, CCR5, CCR8 Célula dendrítica: CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6 Célula NK: CCR2, CCR5 Eosinófilo: CCR1, CCR3 Basófilo: CCR2, CCR3
<u>Receptores para C</u> XCR1	Linfotactina	
<u>Receptores para CX3C</u> CX3CR1	Fractalquina	Linfocito T activado, linfocitos B, monocitos y células NK

Con respecto al CCR3, se considera importante en la migración de los eosinófilos y basófilos y es expresado en linfocitos T activados con fenotipo Th2; además, la unión de la eotaxina a este receptor induce una internalización sostenida por mecanismos independientes de fosfolipasa C y proteína G (2).

Contrario a este receptor, el CXCR3 es expresado en linfocitos T activados con fenotipo Th1 (23). Posiblemente la regulación positiva de los receptores para quimioquinas sobre los leucocitos lleva a una amplificación selectiva de la respuesta inmune celular mediada por un patrón Th1 o Th2; hay evidencia circunstancial de que las células Th1 y Th2 pueden amplificar selectivamente el reclutamiento de otras células T polarizadas por la inducción selectiva de quimioquinas a través del IFN- γ y la IL-4. CCR1 y CCR5 también son marcadores de las células Th1 (2).

TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES

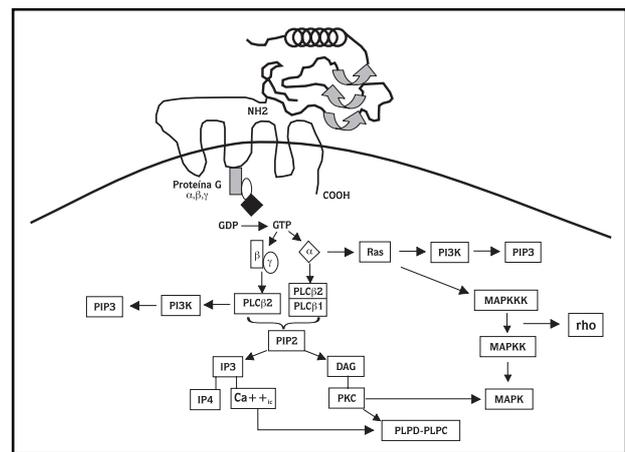
LA TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES a partir de los receptores para quimioquinas requiere un acople inicial con el ligando, seguido por la activación de la proteína G (Figura 2). Ocurre un cambio en la subunidad α de la proteína G, de un estado de unión al GDP por otro de unión al GTP, resultando en una disociación de la subunidad α de las subunidades $\beta\gamma$; la subunidad α libre puede activar las fosfolipasas C (PLC), β_1 y β_2 , mientras el complejo $\beta\gamma$ puede activar la PLC β_2 . La activación de las PLC resulta en la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP2) para generar dos segundos mensajeros: inositol 1,4,5-trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG).

El IP3 moviliza Ca^{2+} de los sitios de almacenamiento, aumentando su flujo intracelular. El DAG estimula la PKC, la que fosforila y activa un número de

efectores como las MAP quinasas. Por otro lado, la activación de la PKC y el aumento del Ca^{2+} citosólico pueden además inducir las fosfolipasas C y D (7,10). Las quimioquinas también inducen frecuentemente la fosforilación de tirosinas quinasas, las cuales participan en el flujo positivo de la cascada de las MAP quinasas.

Figura N° 2

TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES A PARTIR DE RECEPTORES DE QUIMIOQUINAS



Las señales dependientes de la proteína G conducen a la polimerización de actina, la reconfiguración de moléculas de adhesión y otras respuestas celulares que contribuyen a la migración celular (2); estas respuestas son dependientes de PKC y del flujo de Ca^{2+} , mientras la fosforilación de tirosinas y la interacción DAG/PLD promueve la activación del sistema NADPH-oxidasa (4).

DESENSIBILIZACIÓN DE RECEPTORES

LA RESPUESTA DE LOS LEUCOCITOS a las quimioquinas es característicamente transitoria y los receptores son rápidamente desensibilizados.

Hay varias vías reguladoras negativas que llevan a la desensibilización de las reacciones por quimioquinas, resultando en un bloqueo de la transducción de señales por desacoples en la proteína G:

1. Desensibilización homóloga o atenuación: se produce cuando hay un aumento en la concentración del ligando; la interacción ligando-receptor lleva a la fosforilación de la región carboxiterminal del receptor con la consecuente internalización.
2. Desensibilización heteróloga: dosis fisiológicas de otros ligandos interactúan con diferentes receptores acoplados a proteína G, lo que lleva a la fosforilación cruzada y a la inactivación de los receptores de quimioquinas. Un ejemplo son los opiáceos, que interactuando con sus receptores fosforilan cruzadamente los receptores para las quimioquinas IL-8 y RANTES.

La exposición prolongada de las células a los ligandos heterólogos disminuye su capacidad para movilizarse en respuesta a las quimioquinas (4).

GENÉTICA DE LAS QUIMIOQUINAS Y SUS RECEPTORES

LOS GENES QUE CODIFICAN PARA LAS QUIMIOQUINAS y sus receptores probablemente evolucionaron por duplicación génica sucesiva o por eventos de recombinación a partir de un gen ancestral; esto se refleja por el alto grado de homología de la secuencia del DNA y las proteínas.

La mayoría de las quimioquinas CC están codificadas por genes pertenecientes a la subfamilia A de pequeñas citoquinas inducibles (SCYA), agrupados

en el cromosoma 17q-11.2-q23 (2). Las excepciones son: los genes que codifican para TARC y MDC que, junto con la fractalquina (gen SCYD1), están localizados en el cromosoma 16q13; la eotaxina-2 es codificada por un gen localizado en el cromosoma 7; LARC en el cromosoma 2, MIP-3 β y SLC en el 9 y TECK en el 19. La presencia de diferentes localizaciones cromosómicas puede representar eventos tempranos evolucionarios de translocación.

Los genes que codifican para las quimioquinas CXC pertenecen a la subfamilia B de pequeñas citoquinas inducibles (SCYB), agrupados en el cromosoma 4q13-q21. Hay excepciones como SDF-1 cuyo gen se encuentra en el cromosoma 10q11.2; en el cromosoma 4 están los genes para la IL-8, GRO (α, β, γ) y PPBP.

Los genes que codifican para las quimioquinas C, linfotactina y SCM-1 α (SCYC1), se localizan en el cromosoma 1; el gen para SCM-1 β (gen SCYC2) aún no ha sido mapeado. El gen para la fractalquina (SCYD1) ha sido mapeado en el cromosoma 16q13, junto a los genes de TARC y MDC.

La mayoría de los genes que codifican para los receptores CCR (CMKBR) han sido mapeados en el cromosoma 3p21.3-p24; el gen para CCR7 fue mapeado en el cromosoma 17q12-q21 (2). Para los receptores CXCR, los genes se encuentran en el cromosoma 2 excepto CXCR3 que está en el cromosoma 8. El gen que codifica para DARC se localiza en el cromosoma 1q22-q23 (2).

Estructura

LA MAYORÍA DE LOS GENES PARA LAS QUIMIOQUINAS β se componen de 2 intrones y 3 exones; el de la HCC-2 tiene 4 exones y 3 intrones (2). Los genes para las α quimioquinas tienen 4 exones y 3 intrones (4). El marco de lectura (ORF) para la mayoría de los receptores de quimioquinas reside en un sólo exón,

excepto el CCR7 que tiene 2 intrones que interrumpen la región codificadora.

En el extremo 3' UTR de muchos mRNA de quimioquinas se encuentra un elemento potencialmente desestabilizador del mRNA rico en Uridil Adenosil (AUREs), lo cual hace que su vida media sea sólo de una hora (4).

FUNCIONES BIOLÓGICAS DE LAS QUIMIOQUINAS

Quimiotaxis

LAS QUIMIOQUINAS HAN SIDO INVOLUCRADAS en la migración de los leucocitos, tanto en los procesos homeostáticos como inflamatorios (23).

Las quimioquinas CXC pueden dividirse de acuerdo con la actividad quimiotáctica en:

1. Proteínas con el motivo ELR (Glu-Leu-Arg) en la región aminoterminal, que son quimiotácticas para neutrófilos y no para macrófagos o monocitos.
2. Sin motivo ELR, son quimiotácticas para células mononucleares y no para neutrófilos (2).

Las quimioquinas CC generalmente atraen monocitos y linfocitos, pero no neutrófilos. Son quimiotácticas para los eosinófilos: eotaxina-1, eotaxina-2, MCP-2, MCP-3, MCP-4, RANTES, MDC, MIP-1 α (10); algunas de ellas también atraen basófilos. El CCR3 es el receptor que media la mayoría de los efectos quimiotácticos de los eosinófilos y es el único receptor para eotaxina-1 y eotaxina-2.

El rol selectivo de los CCR en la migración de los linfocitos T, monocitos, eosinófilos y basófilos, ha estimulado los estudios relacionados con la infla-

mación alérgica. Muchas quimioquinas tipo CC y CXC regulan la migración de los linfocitos T: IP-10, MIG, RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β , linfotactina (2). Los linfocitos T vírgenes expresan receptores CXCR4 (para SDF-1) y CCR7 (para ELC), importantes para el tráfico basal de estas células. Las células dendríticas también tienen CCR7; este receptor se utiliza para colocalizar células dendríticas y linfocitos T vírgenes en los nódulos linfoides (25).

Algunas quimioquinas muestran selectividad por la migración de los linfocitos T activados: MIG, I-TAC, IP-10, 6-C-Kine y STCP-1.

La polarización de los linfocitos T hacia Th1 y Th2 también se caracteriza por diferencias en la expresión de receptores para las quimioquinas; los linfocitos Th1 expresan CXCR3, CCR1 y CCR5, mientras que los Th2 expresan CCR3 y CCR4 (2).

Migración transendotelial

ESTUDIOS IN VITRO HAN SUGERIDO que la IL-8 es necesaria para la migración transendotelial de los neutrófilos activados; previamente se requiere una señal producida por las citoquinas proinflamatorias IL-1 y TNF- α , que activa a las células endoteliales para interactuar con los leucocitos activados por las quimioquinas, en especial la IL-8. El RANTES induce la migración transendotelial de los eosinófilos activados por IL-5.

Las células endoteliales expresan quimioquinas en la superficie luminal, específicamente en los proteoglicanos (glicocalix), estableciendo un gradiente quimiotáctico local; la respuesta migratoria a este estímulo se llama Haptotaxis (2).

Varias quimioquinas aumentan transitoriamente la adhesividad de las integrinas; por ejemplo, RANTES activa el VLA-4 en los eosinófilos y MCP-3 activa el MAC-1. Otras quimioquinas regulan positivamente la expresión de las integrinas: MIP-1 α aumenta la

expresión de CD11a y CD11c en monocitos. Algunas quimioquinas pueden funcionar como moléculas de adhesión: la fractalquina y CX3CR1 están en la membrana y regulan el tráfico de monocitos y linfocitos.

Hematopoyesis y angiogénesis

LOS EFECTOS DE LAS QUIMIOQUINAS van más allá del reclutamiento y activación de los leucocitos; tienen también efectos en la hematopoyesis, angiogénesis, desarrollo embrionario, fibrosis, metástasis de tumores y apoptosis.

Varias quimioquinas son reguladoras de la proliferación y diferenciación de las células hematopoyéticas y las células progenitoras. Algunas inhiben la proliferación de células madre inmaduras como la PF-4, β -TG, NAP-2 e IL-8. La eotaxina, junto con SCF, promueve el desarrollo de los mastocitos, efecto mediado por el CCR3 que se expresa en las células embrionarias hematopoyéticas; también afectan positivamente el desarrollo de los eosinófilos.

Las CXC ELR(+) tienen propiedades angiogénicas (10); así, la IL-8, ENA-78, GRO, GCP-2 y NAP-2 son importantes en la cicatrización, crecimiento tumoral y metástasis, y proliferación vascular en la artritis reumatoidea. Las CXC ELR(-) inhiben la angiogénesis y el crecimiento tumoral. El balance entre ambos tipos de quimioquinas CXC determina si un tejido presenta o no proliferación vascular (2).

Las quimioquinas han sido relacionadas con la patogénesis de diferentes enfermedades: infección por el VIH, isquemia-reperfusión, síndrome de estrés respiratorio del adulto, glomerulonefritis inducida por inmunocomplejos, arterioesclerosis, reacciones autoinmunes y periodontitis destructivas (2).

Quimioquinas y VIH

SE HA ENCONTRADO que el SDF-1 inhibe la invasión de los linfocitos T por cepas VIH-1 linfotrópicas, al

ocupar el receptor CXCR4 que es el correceptor del virus en estas células.

Las quimioquinas CC RANTES, MIP-1 α y MIP-1 β también podrían prevenir la infección de los monocitos/macrófagos por el VIH al ocupar el receptor CCR5. El 1% de los individuos caucásicos tienen la mutación delta-32 en el gen que codifica para el receptor CCR5, haciendo que la mayoría de ellos sean resistentes a la infección por el VIH.

Un nuevo receptor para quimioquinas, el STRL33, es un cofactor para la fusión a los linfocitos T de cepas del VIH tanto monotrópicas como linfotrópicas. Se han caracterizado otros correceptores para la infección por el VIH: CCR3 y CCR2B (2, 4).

SUMMARY

CHEMOKINES: PROINFLAMMATORY AND CELL TRAFFIC REGULATOR CYTOKINES

Chemokines are a large group of proinflammatory cytokines; currently, there are about 40 different chemokines produced by different cellular sources and with pleiotropic actions. Interest in chemokines' research is growing due to their selectivity to activate and to direct the traffic of different leukocyte populations, in contrast with other chemotactic factors that attract neutrophils and monocytes similarly. Furthermore, it has been observed that chemokines are involved in hematopoiesis, angiogenesis, tissue remodeling, tumor growth and apoptosis.

As chemokines direct the migration and function of leukocytes, it has been proposed that they have an important role in the pathophysiology of some diseases such as immune-complex glomerulonephritis, ischemia-reperfusion, HIV infection and other immune reactions.

BIBLIOGRAFÍA

1. ROT A, HUB E, MIDDELETON J, PONS F, RABEEK C, THIERER K, et al. Some aspects of IL-8 pathophysiology III: chemokine interaction with endothelial cells. *J Leukoc Biol* 1996; 59: 39-44.
2. NICKEL R, BECK LA, STELLATO C, SCHLEIMER RP. Chemokines and allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 723-742.
3. CYSTER JG. Chemokines and cell migration in secondary lymphoid organs. *Science* 1999; 286: 2.098-2.101.
4. KRAKAVER T, VILCEK J, OPPENHEIM JJ. Proinflammatory cytokines. In: Paul WE, ed. *Fundamental Immunology*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999: 775-811.
5. BARRETT JR. Chemokines. *Blood* 1997; 90: 909-928.
6. HALLORAN MM, WOODS JM, STRIETER RM, SZEKANECZ Z, VOLIN MV, HOSAKA S, et al. The role of an epithelial neutrophil-activating peptide-78-like protein in rat adjuvant-induced arthritis. *J Immunol* 1999;162: 7.492-7.499.
7. BEN-BARUCH A, MICHIEL DF, OPPENHEIM JJ. Signals and receptors involved in recruitment of inflammatory cells. *J Biol Chem* 1995; 270: 11.703-11.706.
8. RAJARATHNAM K, SYKES BD, KAY CM, DEWALD B, GEISER T, BAGLIOLINI M, et al. Neutrophil activation by monomeric interleukin-8. *Science* 1994; 264: 90-92.
9. BAGGIOLINI M, DEWALD B, MOSER B. Human chemokines: an update. *Ann Rev Immunol* 1997; 15: 675-705.
10. ALAM R. Chemokines in allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 273-277.
11. HUBER AR, KUNKEL SL, TOOD RF, WEISS SJ. Regulation of transendothelial neutrophil migration by endogenous interleukin-8. *Science* 1991; 254: 99-102.
12. De NARDIN E. The molecular basis for neutrophil dysfunction in early-onset periodontitis. *J Periodontol* 1996; 67: 345-354.
13. MATSUKAWA A, YOSHIMURA T, MAEDA T, OLIKAWARA S, TAKAGI K, YOSHINAGA M. Neutrophil accumulation and activation by homologous IL-8 in rabbits. *J Immunol* 1995; 154: 5.418-5.425.
14. SIDDIQUI RA, AKARD LP, GARCIA JGN, CUI Y, ENGLISH D. Chemotactic migration triggers IL-8 generation in neutrophilic leukocytes. *J Immunol* 1999;162: 1.077-1.083.
15. AHUJA SK, MURPHY PM. The CXC chemokines growth-regulated oncogene (GRO) alpha, GRO-beta, GRO-gamma, neutrophil-activating peptide-2, and epithelial cell-derived neutrophil activating peptide-78 are potent agonists for type B, but not the type A, human interleukin-8 receptor. *J Biol Chem* 1996; 271: 20.545-20.550.
16. ZWHALEN R, WALZ A, ROT A. In vitro and in vivo activity and pathophysiology of human interleukin-8 and related peptides. *Int Rev Exp Pathol* 1993; 34: 27-42.
17. DAMAJ BB, MCCOLL SR, NEOTE K, HÉBERT CA, NACCACHE PH. Diverging signal transduction pathways activated by interleukin 8 (IL-8) and related chemokines in human neutrophils. *J Biol Chem* 1996; 271: 20.540-20.544.
18. SCHMOUDER RL, STREITER RM, WALZ A, KUNKEL SL. Epithelial-derived neutrophil-activating factor-78 production in human renal tubule epithelial cells and in renal allograft rejection. *Transplantation* 1995; 59: 118-124.
19. KOCH AE, KUNKEL SL, HARLOW LA, MAZARAKIS DD, HAINES GK, BURDICK MD, et al. Epithelial neutrophil activating peptide-78: a novel chemotactic cytokine for neutrophils in arthritis. *J Clin Invest* 1994; 94: 1.012-1.018.
20. IMAIZUMI T, ALBERTINE KH, JICHA DL, MCINTYRE TM, PRESCOTT SM, ZIMMERMAN GA. Human endothelial cells synthesize ENA-78: relationship to IL-8 and signaling of PMN adhesion. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 17: 181-192.
21. BOZIC CR, GERARD NP, GERARD C. Receptor binding specificity and pulmonary gene expression of the neutrophil-activating peptide ENA-78. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 14: 302-308.

22. KEATES S, KEATES AC, MIZOGUCHI E, BHAN A, KELLY CP. Enterocytes are the primary source of the chemokine ENA-78 in normal colon and ulcerative colitis. *Am J Physiol* 1997; 273: 675-682.
23. LUSTER AD. Chemokines: chemotactic cytokines that mediate inflammation. *New Engl J Med* 1998; 338: 436-445.
24. GREEN SP, CHUNTHARAPAI A, CURNUTTE JT. Interleukin-8 (IL-8), melanoma growth-stimulatory activity, and neutrophil-activating peptide selectively mediate priming of the neutrophil NADPH oxidase through the type A or type B IL-8 receptor. *J Biol Chem* 1996; 271: 25.400-25.405.
25. RANDOLPH DA, HUANG G, CARRUTHERS CJL, BROMLEY LE, CHAPLIN DD. The role of CCR7 in Th1 and Th2 cell localization and delivery of B cell help in vivo. *Science* 1999; 286: 2.159-2.161.

