

Monocitos y Macrófagos Bases Moleculares para su estructura y Funciones

Dra. MARÍA JOSÉ JANNAUT
Dr. JOSÉ FELIX RESTREPO
Dr. MARIO PEÑA
Dr. ALVARO SÁNCHEZ
Dr. ANTONIO IGLESIAS
Sección de Reumatología, Facultad de Medicina,
Universidad Nacional, Hospital San Juan de Dios

Introducción

Desde hace más de 100 años cuando fueron descritas las células del sistema mononuclear y sus funciones como células fagocíticas los conceptos en inmunología y biología molecular se han venido ampliando hasta involucrar el sistema en el modelo de presentación antigénica. Elie Metchnikoff, científico de nacionalidad rusa asoció por primera vez las células mononucleares de la sangre llamadas micrófagos con las células tisulares que denominó macrófagos por su mayor tamaño. Veinte años después Aschoff las unió bajo el nombre de sistema retículo endotelial por su característica común de tomar colorantes vitales. Desafortunadamente esta definición descartaba células con capacidad fagocítica e incluía otras como la célula endotelial que no pertenece al grupo. La denominación actual de sistema fagocitario mononuclear asocia todas las células del sistema inmunitario con capacidad fagocitaria independientemente de su morfología. La presente discusión intenta resumir las características morfológicas, la constitución molecular y los mecanismos que permiten cumplir a estas células sus diferentes funciones.

Morfología

El monocito es la célula sanguínea. Tiene un tamaño promedio de 20 a 25 μm , núcleo excéntrico con forma de herradura o reniforme y corresponde a un 3-5% de los leucocitos circulantes. La mayor parte de los monocitos pertenecen a la poza central y solo un 20% se localizan dentro de la poza marginal, al lado de las células endoteliales. Por su vida media corta de solo 8 a 10 hr tiene una producción medular elevada, que oscila entre 1×10^8 células por Kg de peso y por día.

El macrófago es el representante tisular. Se diferencia del monocito por su tamaño que es de 3 a 10 veces mayor, y por la presencia de procesos dendríticos que le confieren a la microscopía electrónica un aspecto espiculado. El núcleo es usualmente único pero puede ser múltiple. El citoplasma contiene gránulos densos que corresponden a vacuolas o fagosomas. Estas estructuras están provistas de una bomba de protones, un mecanismo para mantener la acidez en su interior. Histológicamente estas células pueden ser identificadas independientemente de su tamaño por la capacidad de tinción con estearasas, lisozimas y peroxidasa. Inmunológicamente macrófagos y monocitos comparten marcadores de membrana incluyendo los antígenos Mo 1, Mo 2 y el CD 14.

Los macrófagos se diferencian morfológicamente según el tejido al cual migran. Esta diferenciación determina si su función principal será simplemente fagocítica, o si por el contrario actuará como célula presentadora de antígenos.

De los grupos especializados merecen especial atención las células implicadas en la formación de granulomas. Un granuloma es una estructura que pretende aislar un antígeno que por su estructura o por la puerta de entrada ha sido insuficientemente procesado y, por tanto, la respuesta inmune ineficaz. Las células epitelioides, denominadas así por su parecido con las células epiteliales de la piel, están constituidas por la fusión de macrófagos. Las células gigantes multinucleadas en cambio se producen por una fusión de citoplasmas únicamente, conservándose la variedad de núcleos. Estas últimas forman parte de los granulomas a cuerpo extraño. La célula de Kupffer resulta interesante ya que es el primer contacto de los antígenos adquiridos a través del tracto gastrointestinal y de esta manera está comprometida en los procesos de alergia a alimentos. Se discute si la célula dendrítica pertenece a esta familia a pesar de conservar como estructura fagocítica la presencia de gránulos de Bierbeck. Otros macrófagos especializados son el

neumocito tipo II, el osteoclasto, el sinoviocito tipo A, las células veladas de los linfáticos y las células del retículo interdígital en el área paracortical de los nódulos linfáticos.

Maduración y Ontogenia de las Células Mononucleares

La célula medular progenitora es la unidad formadora de colonias de granulocito y macrófago cuya maduración depende del microambiente medular. Los factores estimuladores de colonias definen este microambiente no solo con base en su presencia o ausencia sino también por sus interacciones y concentraciones. Por ejemplo el GM-CSF a altas dosis estimula la diferenciación a granulocito y a bajas dosis a monocito. En este punto la presencia de IL3 es factor limitante para la diferenciación de las colonias. Otros factores como IL6 o el factor Steel pueden ser sinérgicos. Las citocinas pueden actuar a manera endocrina, paracrina o autocrina dependiendo de sus concentraciones. Además existen entre ellas mecanismos de regulación y modulación hacia abajo que impiden que una vez estimulada la CFU GM pueda después cambiar de línea.

En general los factores estimuladores de colonias (CFS) colaboran a mantener la integridad de membranas, promueven la maduración de precursores y aumentan la actividad de células ya maduras. Otros como el GM-CSF (factor estimulante de granulocito-monocito) tienen funciones más específicas como estimular la expresión de moléculas de clase II de CMH (complejo mayor de histocompatibilidad) y aumentar la producción de FNT alfa. Por su parte el M-CSF potencia la actividad tumorigénica.

Tráfico de Monocitos: Mecanismos de entrada a los Tejidos

Dentro de la vida del monocito el momento definitivo desde el punto de vista funcional está en su diferenciación a macrófago tisular. Los factores que conducen y limitan esta diferenciación son dos: el primero es el estímulo suficiente que

lleve la célula sanguínea al tejido específico. El segundo es el mecanismo que permita el paso de dicha célula a través de la barrera endotelial. El estímulo lo obtiene de las sustancias quimioatrayentes en solución, el mecanismo son las moléculas de adhesión intercelular. Ambos procesos fueron descritos por Van Furth en 1986.

Moléculas de adhesión

Las principales moléculas de adhesión identificadas pertenecen al grupo LeuCAMs conocidas en la literatura actual por el antígeno CD 18. El LFA-1 (factor de activación lenta) (CD 11a/CD 18) y el MAC-1 (CD 11b/CD 18) interactúan con la molécula endotelial ICAM-1, inducible en el proceso de inflamación. Una tercera proteína implicada es la glicoproteína de 150,95 Kd (CD 11c/CD 18) que corresponde al receptor tipo 4 del complemento. La presencia de CR4 y MAC-1 (CR-3) son los principales marcadores de activación del macrófago.

Están implicados sin embargo otro tipo de receptores como el del ácido hialurónico, laminina, elastina, colágeno, fibronectina y proteoglicanos. Estos receptores tienen en común la característica de ser estimulados por fragmentos de tales sustancias más que por el determinante completo.

Sustancias quimioatrayentes

Las sustancias quimioatrayentes son de diversos tipos y tienen capacidad de inducir movilidad de monocitos a diferentes concentraciones pero siempre en el sentido de gradientes de concentración. Las más conocidas son productos bacterianos que pueden ser protéicos o no. Los de mayor potencia atrayente son los derivados oligopéptidos n-formil. Se incluyen en esta categoría algunos productos de la activación del complemento especialmente las anafilotoxinas C3a y C5a y los fragmentos C3b y C3bi. Dentro del amplio espectro de citocinas las que tienen mayor capacidad de atraer son el factor RANTES y el MIF ambos derivados de linfocitos T activos. Otras sustancias derivadas del metabolismo normal del colágeno tienen idénticas funciones.

La capacidad de migración del monocito está sustentada en los cambios conformacionales al-

rededor de su citoesqueleto. Como en muchas otras células este citoesqueleto está formado por una red de fibras finas de actina, interconectadas entre sí por otras dos proteínas la profilina y la gelsolina. La gelsolina es la mediadora primaria del movimiento ya que actúa a manera de bisagra entre las fibras de actina. El proceso de activación depende de la unión de un receptor específico de membrana con el estímulo adecuado. La unión actúa a través de proteínas G produciendo clivaje de la fracción alfa, la cual se asocia con un nucleótido de GTP. La asociación desencadena un proceso de fosforilaciones del inositol hasta producir dos metabolitos: diacilglicerol y trifosfato de adenosina. Uno y otro inducen aumento de la concentración de calcio intracelular, el cual se une a la gelsolina activándola. El resultado último es la contracción de los filamentos de actina y su posterior separación, o en otras palabras movimiento celular.

Receptores de Superficie de la Célula Mononuclear

Existen por lo menos cinco familias diferentes de receptores de membrana, la mayoría de ellos involucrados en las funciones de presentación antigénica.

1. Receptor para la fracción Fc de Ig (Ig G, Ig E). Están descritos tres tipos de receptor:
 - FcR I sensible solamente a Ig G de tipo monomérico. Está presente en todo tipo de células mieloides.
 - FcR II que actúa con Ig policlonales. Se expresa en monocitos, linfocitos y granulocitos.
 - FcR III sensible a bajas dosis de Ig G agregada. Presente en granulocitos y células natural killer. Comparten varias acciones entre ellas mediar en parte los procesos de fagocitosis y citotoxicidad directa.
2. Receptores para el complemento. Son estimulados solamente por los fragmentos de activación, los principales están dirigidos hacia la molécula C3 y son los receptores CR1 CR3. Su principal acción es colaborar con los FcR en la captura de células o partículas previamente opsonizadas. El CR1 y el

CR3 inducen la formación de prostaglandina y el receptor para anafilotoxinas, en especial de C5a participa en quimiotaxis.

3. Receptores para Citokinas. Los receptores para IL1, IL2, IL4 e IL6 inducen la secreción de productos específicos en la cadena respiratoria. Su estimulación es factor limitante en la producción de derivados libres de oxígeno, sustancias bactericidas por excelencia.
4. Receptores para Fibronectina. Corresponden a integrinas del grupo VLA (very low activity). Los dos más comúnmente expresados son VLA 6 y VLA 3. Participan en la migración desde el endotelio hasta el intersticio tisular y potencian las acciones del FcR alfa y los receptores del complemento.
5. Otros receptores. Se expresan también receptores para insulina capaces de suprimir la activación de los FcR. Se postula la posibilidad de que tales receptores sean responsables de la fagocitosis ineficaz demostrada en los pacientes con diabetes tipo II. El receptor para esteroides inhibe la acción de la fosfolipasa A2 y es responsable de la disminución de prostaglandinas por vías distintas de la acción de los AINES. Otros receptores colaboran con la maduración celular, tal es el caso del receptor de calcitriol. *Figura 1.*

Productos Específicos de Secreción del Monocito

Interleukina-1

Se presenta como dos monómeros: IL1 alfa, con un peso molecular de 17.5 kd que en la naturaleza se mantiene unida a las membranas celulares y/o IL1 beta, de 25 kd, libre en plasma. Su función principal es actuar como señal comitogénica del linfocito T para su diferenciación y especialización. Ayuda a la liberación de PMN desde la médula ósea y en forma periférica induce proliferación de fibroblastos. La interleukina 1 es el principal pirógeno endógeno por su capacidad de activar directamente al hipotálamo en el centro regulador de la temperatura.

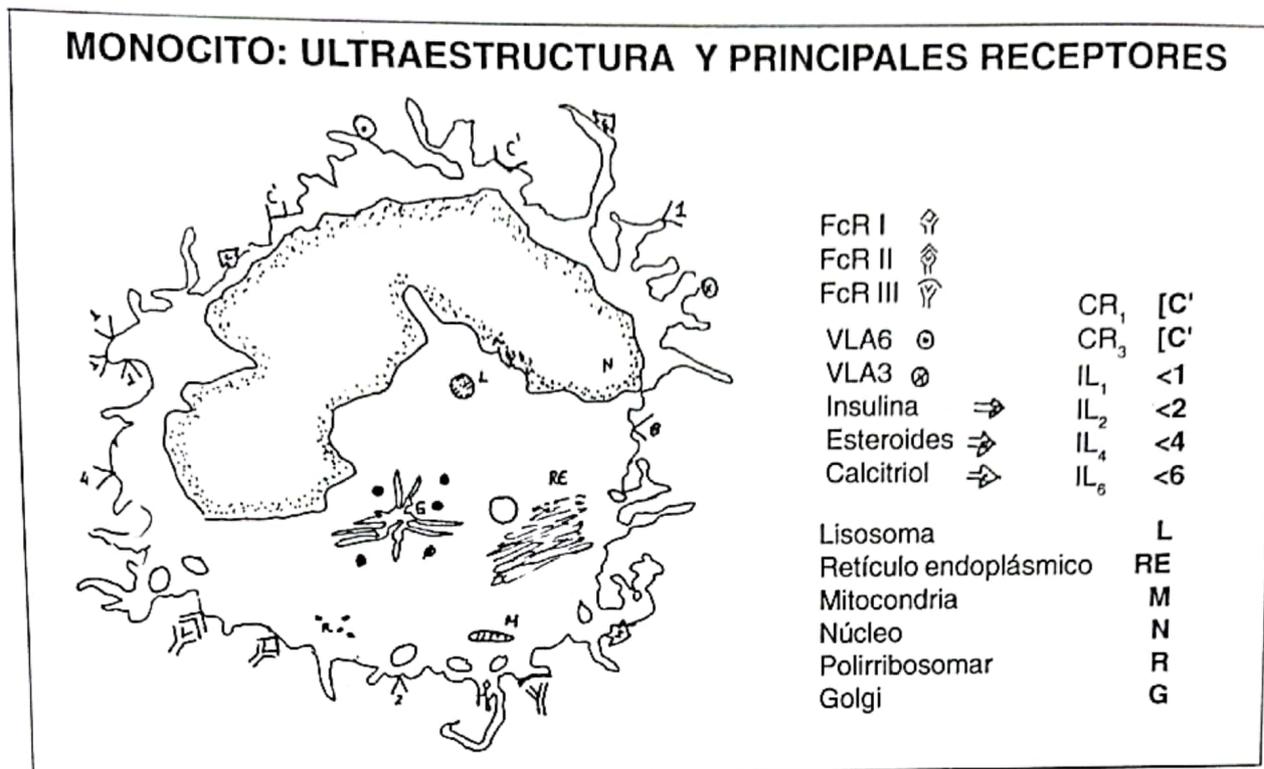


Figura 1

Factores estimuladores de colonias.

Se producen en respuesta a tres estímulos: presencia de endotoxina circulante, IFN alfa y ésteres de forbol. Colaboran en el mecanismo de "down modulation", indispensable para evitar la dediferenciación de las líneas celulares en médula ósea.

IL-6

Es un producto exclusivo del monocito. En la naturaleza se presenta con tres pesos moleculares diferentes: 19 kd, 21kd y 32 kd. Su acción es la estimulación de linfocitos B. Son acciones secundarias la coactivación de la hematopoyesis y la liberación de proteínas hepáticas conocidas como reactantes de fase aguda. Tales proteínas sirven para multiplicar y sostener la respuesta primaria. Los niveles de interleukina 6 en líquido sinovial están aumentados en los pacientes con artritis reumatoidea y sirven como indicadores de actividad.

Factor de necrosis tumoral alfa.

Molécula originalmente conocida como

caquectina por su capacidad de inducir pérdida de peso y un estado de catabolismo intenso. La porción beta es producida por linfocitos y se conoce también como linfotóxina. La porción alfa es sintetizada por monocitos en respuesta a la presencia de lipopolisacáridos. La inducción del estado catabólico es mediada por la inhibición de cuatro enzimas: lipoprotein lipasa, AcetilCoA, carboxilasa y sintetasas de ácidos grasos. Simultáneamente se produce glicogenolisis con el objeto último de aumentar las reservas calóricas fácilmente disponibles. Dentro de sus funciones inmunes se describen aumento de la fagocitosis de los PMN y de la citotoxicidad mediada por Anticuerpos.

Producción enzimática.

Son varias las enzimas implicadas en el proceso de fagocitosis. Las principales son las hidrolasas lisosomales activas a pH ácido. La lisozima actúa sobre las uniones N-acetil glucosamina causando lisis y fragmentación. En contraposición la célula mononuclear sintetiza inhibidores específicos de estas sustancias.

Funciones del Monocito

FUNCIONES SIMPLES

Fagocitosis

Es la más simple de las funciones del monocito. Consiste en la ingestión de partículas sólidas a través de evaginaciones de la membrana celular llamadas pseudópodos. La fagocitosis puede ser simple cuando está mediada exclusivamente por el contacto celular a través del receptor de partícula o ayudada cuando la sustancia fagocitada ha sido previamente opsonizada. Aún cuando el mecanismo es el mismo, la diferencia esencial está en la velocidad de ingestión. Para iniciar el proceso el receptor primariamente excitado provoca una fosforilación de proteínas transmembrana que enciende el mecanismo de cremallera. Los receptores hacen capping, se localizan en las cercanías de la partícula opsonizada e interactúan con las moléculas de Ig o complemento estabilizando la unión. La partícula es rodeada de membrana celular y se involucra en el interior de la célula convirtiéndose en fagosoma primario. Al fusionarse la membrana con vacuolas enzimáticas se convierte en fagosoma secundario. El proceso de clivaje proteolítico puede mantenerse indefinidamente hasta degradar totalmente la partícula ingerida que se fusiona nuevamente con la membrana celular y se expulsa. En otras ocasiones inhibidores específicos frenan la reacción obteniéndose fragmentos antigénicos de diferentes pesos moleculares y diferente capacidad inmunogénica.

Pinocitosis

Consiste en la ingestión de moléculas solubles gracias a su difusión por la membrana celular. Esta difusión está mediada por proteínas constitucionales de membrana, especialmente clatrina. Clatrina es una molécula compleja de alto peso molecular y estructura en embudo que actúa a manera de poro para sustancias hidrosolubles. Una vez en el interior de la célula mononuclear la sustancia soluble es rodeada de una vesícula pinocítica para su posterior degradación.

Digestión intracelular

Una vez en el interior del fagosoma primario la sustancia ingerida debe ser degradada. El pro-

ceso de degradación se regula mediante dos mecanismos, el primero dependiente de productos libres de oxígeno y el segundo de enzimas específicas. La primera parte se activa especialmente a través de los receptores de superficie para interleukinas y es inespecífica en su acción. Las macromoléculas se dividen así en componentes más pequeños, susceptibles de lisis enzimática. En este punto el factor limitante es la acción de la bomba de protones característica de las membranas celulares de los mononucleares y encargada de mantener el pH dentro del fagosoma por debajo de 3.5. La síntesis de reguladores enzimáticos dentro del mecanismo de proteasas y antiproteasas lleva al sistema a un punto de equilibrio.

FUNCIONES COMPLEJAS

Presentación antigénica

En general los linfocitos T y B reconocen antígenos diferentes por mecanismos diferentes: los linfocitos T reconocen solamente antígenos proteicos (péptidos de ocho a doce aminoácidos) mientras que las células B reconocen proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos, lípidos y radicales químicos pequeños. Incluso los linfocitos T en gran mayoría requieren la presencia de haptenos que se unen a proteínas de superficie incluyendo moléculas HLA.

Otra diferencia importante radica en la capacidad del linfocito B de reconocer proteínas en su configuración nativa o terciaria e incluso en formas degradadas, mientras que los linfocitos T reconocen exclusivamente determinantes lineares o pequeños fragmentos.

De todas maneras la característica que en forma crítica identifica las diferencias de función está dada por el fenómeno de restricción de HLA que implica que una célula presentadora de antígenos exprese moléculas de HLA que el receptor del linfocito T reconozca como propias para iniciar el proceso de respuesta al antígeno extraño presentado por las células presentadoras.

El rasgo fundamental en presentación antigénica a linfocitos T con restricción para HLA es que los antígenos extraños formen complejos físicos con las moléculas HLA del tipo II. Las células presentadoras (APC) son capaces de con-

vertir grandes proteínas globulares a un tamaño lo suficientemente pequeño y a una conformación apropiada que sea capaz de unirse en forma no covalente a las moléculas de clase I ó II. Este proceso se conoce con el nombre de procesamiento antigénico. Los requisitos para que una célula sea presentador de antígenos endocitados y por otra la expresión de productos de las moléculas de clase II. Las células más capacitadas son los fagocitos mononucleares, linfocitos B, células dendríticas, células de Langerhans de la piel y células endoteliales. Los mononucleares tienen un papel importante en la presentación de antígenos derivados de organismos infecciosos gracias a su capacidad de fagocitar partículas grandes.

En la actualidad se conocen varias características del proceso de acoplamiento:

1. Varios antígenos pueden unirse a la misma molécula de HLA, lo cual implica que el monocito carece de especificidad y esta función está reservada al receptor del linfocito T. Esto implica también que moléculas estructuralmente similares pueden competir entre sí.
2. La interacción entre los péptidos antigénicos y las moléculas HLA es de baja afinidad, con una velocidad de activación y desactivación muy bajas. Esta lentitud sugiere que se requieren cambios conformacionales del péptido para estabilizar la unión.
3. La asociación de péptidos con moléculas de clase I y II está determinada por las estructuras primaria y secundaria de ambas moléculas. El complejo bimolecular obtenido es el ligando específico para el receptor de linfocito T (TCR).

Los pasos en la vía de presentación antigénica restringida a moléculas del tipo II en antígenos extracelulares están esquematizados en la *Figura 2*.

El 1 corresponde al proceso de internalización de la partícula en su estado natural a través de endocitosis, formándose el endosoma primario. En el paso 2 se inicia el procesamiento de la proteína dentro del endosoma generándose varios péptidos más pequeños con diferentes capacidades de inmunogénesis. En forma independiente

la célula sintetiza moléculas de HLA del tipo II y las almacena dentro de vesículas que nadan al azar dentro del citoplasma. En el paso 4 las vesículas que contienen el antígeno procesado se encuentran con las vesículas que contienen moléculas HLA y se fusionan. En 5 se produce la unión del péptido inmunodominante con el HLA formándose el complejo bimolecular; los restos de los péptidos no unidos son sometidos a degradación hasta aminoácidos y posteriormente liberados. Finalmente el endosoma se fusiona con la membrana plasmática permitiendo la expresión de los complejos y la posterior presentación cuando se logre la interacción del TCR.

Algunas Aplicaciones en Patologías Específicas

Monocitos y macrófagos sirven como células efectoras con potente actividad antibacteriana y antitumoral. La resistencia a la infección por muchas bacterias intracelulares (*Salmonela*, *Brucela*, *Listeria*, *Micobacterias*), hongos y algunos parásitos (protozoos) depende de la activación de macrófagos para erradicar la infección. De hecho el macrófago activado tiene potente actividad microbicida, pero su falta de especificidad puede mediar patología.

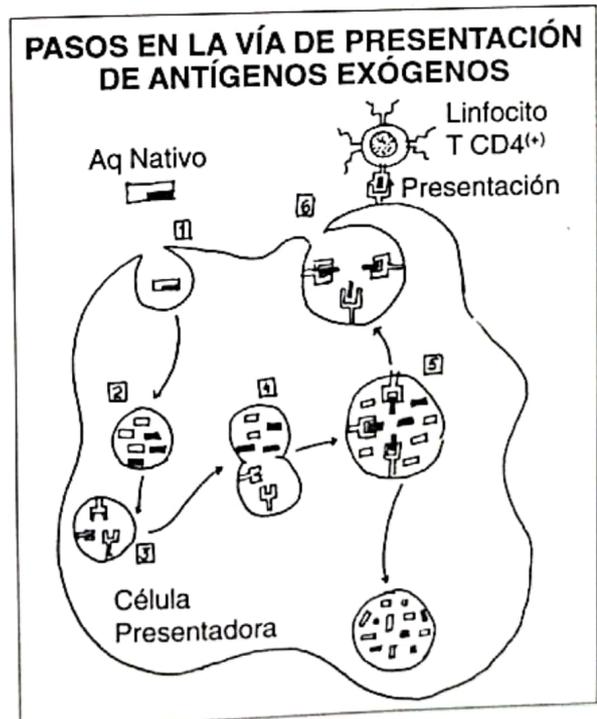


Figura 2.

En la Malacoplaquia, una enfermedad granulomatosa que compromete uréteres, se forman colecciones de mononucleares del tipo macrófagos Hansmann, probablemente importantes en la patogenia. En el caso de la Hidradenitis supurativa ocurre infección de los linfáticos por estafilococos, probablemente por un defecto de fagocitosis. A la inversa existen un sinnúmero de patologías que afectan la función normal de monocitos que incluyen cáncer, cirrosis, trauma quirúrgico, trauma térmico, tabaquismo, diabetes, deficiencia de B12 y por supuesto la exposición a drogas y tóxicos como agentes adrenérgicos, colchicina, penicilamina, anfotericina y tratamiento con radiación.

En la infección por HIV los monocitos sanguíneos pueden servir como reservorios para el virus, sirviendo así como vehículo de transmisión al SNC y como mediador del complejo demencia asociada a HIV. De hecho la infección permanece en la célula sanguínea por un largo período antes de infectar la neuroglia.

Una de las patologías más asociadas a disfunción monocitaria es la sarcoidosis, caracterizada por la presencia de granulomas no caseificantes en respuesta a antígenos pobremente definidos. Estos pacientes exhiben gamopatía policlonal, falla en la respuesta a antígenos con previa exposición (anergia), niveles elevados de enzima convertidora de angiotensina, la cual es producida por macrófagos y células epitelioides hipercalcemia. La hipercalcemia es debida a los niveles elevados de vitamina D, derivados de macrófagos activados.

La monocitosis es en general una manifestación de una enfermedad inflamatoria o neoplásica. Ciertos tumores hematopoyéticos, especialmente las leucemias agudas y crónicas tienen su mayor manifestación en el predominio de mononucleares en médula ósea y sangre periférica. Deben incluirse en este grupo los desórdenes por depósito anormal de lípidos y carbohidratos. La monocitopenia aislada es muy rara y puede ocasionar cierta susceptibilidad a infecciones. Los glucocorticoides inducen monocitopenia lo que explica en parte la frecuencia de infecciones por gérmenes comunes en estos pacientes.

La Tabla 1 resume la mayoría de enfermedades en que se comprometen los mononucleares.

Conclusión

Cuando se describieron los monocitos hace más de diez años por Metchnikoff se definieron únicamente como células centinela con la habilidad para proteger al huésped engolfando y destruyendo bacterias inadvertidas. Hoy en día se reconoce su importancia en todas las fases de la respuesta inmune celular y humoral. En la preservación de la homeostasis los monocitos tienen un papel clave en el procesamiento antigénico y la producción de factores solubles los cuales modulan la función de otras células del sistema inmune. ■

- | |
|--|
| <p>1. MONOCITOPENIA</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anemia aplásica • Leucemia de células peludas • Tratamiento con glucocorticoides <p>2. MONOCITOSIS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Benigna • Premaligna • Maligna: <ul style="list-style-type: none"> leucemia monocítica aguda leucemia monocítica crónica leucemia mielomonocítica <p>3. DEFICIENCIA DE MACROFAGOS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Osteopetrosis <p>4. HISTIOCITOSIS INFLAMATORIAS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Histiocitosis de Langerhans y de no Langerhans <p>5. ENFERMEDADES DE DEPOSITO</p> <ul style="list-style-type: none"> • Enfermedad de Gaucher • Enfermedad de Nieman Pick • Gangliosidosis • Síndrome del histiocito azul mar <p>6. HISTIOCITOSIS MALIGNAS</p> <p>7. DISFUNCION DE MONOCITO Y/O MACROFAGO</p> <ul style="list-style-type: none"> • Enfermedades crónicas granulomatosas • Tratamiento con glucocorticoides • Candidiasis mucocutánea generalizada • Síndrome de Chédiak Higashi • Tabaquismo |
|--|

Tabla 1

Referencias

- Abbas A, Lichtman A, Pober J: Antigen Presentation and T cell Antigen Recognition in Cellular and Molecular Immunology, 1991; 115-137.
- Kelly A, Harris D, Duddy S, Sledge P: Monocytes and Macrophages in Rheumatology, 1993, 4a edición.
- Allen P: Antigen processing at the molecular level. Immunology Today 8: 270-73.
- Unanue E, Allen M: The basis for the immunoregulatory role of macrophages and other accessory cells. Science 236: 552-57.