



El macrófago en enfermedad vascular ¿El enemigo oculto?

Darío Echeverri, MD.⁽¹⁾; Marta Fontanilla, QF., Ph.D.^(2,3); Lorena Buitrago, MB.⁽¹⁾

Bogotá, DC., Colombia.

El macrófago es un eslabón en una cadena de eventos biológicos, conocido comúnmente por jugar un papel protagónico en el sistema inmune. Sin embargo, su gran actividad quimiotáctica, antigénica, la capacidad de participar en el metabolismo lipídico a nivel tisular y su interrelación con otras células (monocitos, células endoteliales, células de músculo liso vascular, pericitos, fibroblastos, etc.) son el soporte de la hipótesis de la aterogénesis como una enfermedad inflamatoria.

El macrófago participa en la génesis, progresión, regresión y complicación de la placa aterosclerótica. Su modulación es el objetivo de diferentes terapias actuales, y sin duda continuará siéndolo.

En este artículo se pretende concientizar al lector de la importancia que tiene el macrófago en la enfermedad cardiovascular.

PALABRAS CLAVE: macrófago, íntima, ateroma.

The macrophage is a link in a chain of biological events, commonly known for its major role in the immune system, its huge chemotactic and antigenic activity, the capacity of taking part in the lipidic metabolism at tissular level and its inter-relation with other cells (monocytes, endothelial cells, smooth muscle vascular cells, pericytes, fibroblasts, etc.) are the support of the hypothesis of atherogenesis as an inflammatory disease.

The macrophage participates in the genesis, progression, regression and complication of the atherosclerotic plaque. Its modulation is the objective of different actual therapies and it will continue being so, with no doubt.

In this article we pretend that the reader be conscious of the importance of the macrophage in the cardiovascular disease.

KEY WORDS: macrophage, intima, atheroma.

(Rev. Col. Cardiol. 2004; 11: 164-173)

(1) Fundación Cardio-Infantil - Instituto de Cardiología, Bogotá, DC., Colombia.

(2) Universidad del Bosque, Bogotá, DC., Colombia.

(3) Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, DC., Colombia.

Introducción

El macrófago es una célula fagocítica presente en el tejido conectivo de los vertebrados. Es a su vez una célula extraordinariamente versátil debido al papel que juega en la presentación y procesamiento de los antígenos, en la producción de moléculas con actividad biológica [por ejemplo: proteasas, citoquinas y factores de crecimiento (FC)], y en el metabolismo de los lípidos. Las características mencionadas hacen que el macrófago juegue un papel central en la génesis y progresión de la enfermedad vascular.

Se ha especulado mucho acerca del papel que tiene el macrófago en la iniciación y/o progresión de aterogénesis, angiogénesis, dilataciones aneurismáticas, vasculitis y a reacciones fisiopatológicas en respuesta a muchas terapias intervencionistas usadas actualmente (por ejemplo: puentes venosos, angioplastia, aterectomías y *stents*). Muchos de estos procesos involucran una interacción coordinada entre el macrófago y los linfocitos T y B, produciendo una respuesta inflamatoria e incluso destrucción de tejido local. El macrófago interactúa con células endoteliales (CE), células del músculo liso vascular (CMLV) y fibroblastos para mediar la cicatrización, la angiogénesis y la hiperplasia intimal.

La evidencia de aparición temprana de macrófagos derivados de monocitos en lesiones arteriales, incluyendo aquellas de aterosclerosis y re-estenosis post-angioplastia, es sustancial. El papel de los macrófagos en la modulación de la proliferación de las CMLV es una característica de estas arteriopatías, reacción a puentes venosos y reacción a endoprótesis vasculares (1, 2).

Por estar ubicado principalmente en el espacio subendotelial (íntima) y mediar gran cantidad de los fenómenos fisiopatológicos de las enfermedades vasculares, el macrófago es considerado «*el enemigo oculto*». Así como actualmente la CE es motivo de estudio, el macrófago puede llegar a convertirse en «*célula blanco*» de las terapias farmacológicas y genéticas para la prevención, estabilización y regresión de las enfermedades vasculares, en especial de la aterosclerosis (Figura 1).

El macrófago como célula

Fue descrito por primera vez por Metchnikoff y Messina (3) hace más de un siglo, sin embargo, el papel que pueden tener estas células en la aterosclerosis fue descrito por Anitschow (4) en 1933, quien reportó la presencia

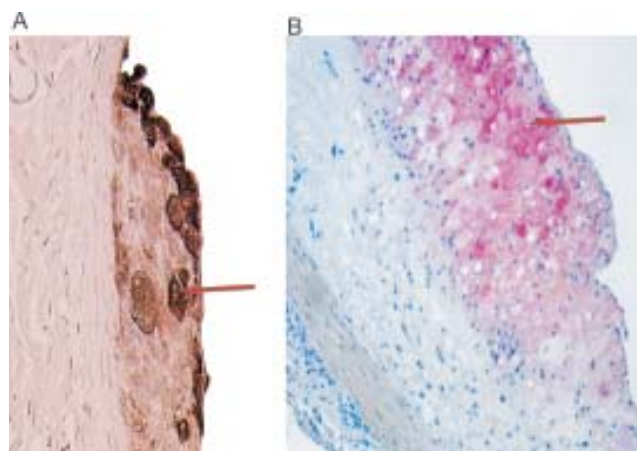


Figura 1. Aterosclerosis temprana en un modelo experimental en conejos hipercolesterolémicos de 20 semanas. Panel A: se observa una estría grasa en una arteria coronaria. Coloración RAM-11 (Dako Corp), la flecha señala un macrófago residente en la íntima. 40X. Panel B: se observa una estría grasa en aorta torácica. Técnica de doble inmunohistoquímica compuesta por alfa-actina para células de músculo liso y RAM-11 (rojo) para macrófagos y células espumosas (flecha). Se observan depósitos extracelulares de lípidos. 20X.

de macrófagos en lesiones de aorta de conejos alimentados con dietas ricas en grasas de origen animal. Su presencia en lesiones ateroscleróticas humanas fue informada en 1961 (5) y demostrada por microscopía electrónica en 1980 (6) usando técnicas de identificación por inmunohistoquímica. Recientemente, ha habido gran interés en el entendimiento del papel fisiopatológico que tiene el macrófago dentro de la placa ateromatosa en cuanto al metabolismo de lípidos, procesos inflamatorios y modulación de la actividad de células proliferativas mesenquimales.

El término macrófago fue asignado por Aschoff (7) en 1924 al sistema retículo-endotelial (RES) que incluye no solamente monocitos, macrófagos e histiocitos, sino también fibroblastos, células endoteliales y células reticulares. Estudios más recientes separaron estas células de acuerdo con sus capacidades funcionales e identificación inmunohistoquímica. A partir de 1969, se definió el concepto de sistema fagocítico mononuclear (SFM), el cual consiste en una variedad de macrófagos, derivados de monoblastos encontrados en la médula ósea (8). La diferenciación y maduración de los monocitos se presenta en varios pasos secuenciales, mediados por FC. Estos factores son principalmente citoquinas denominadas factores estimuladores de colonia (CSF) secretadas por la médula ósea, células pluripotentes, linfocitos TH y macrófagos activados. Las células madre pluripotentes se diferencian en célula linfoide o célula mieloide; esta diferenciación se da dependiendo del

tipo y concentración de los FC presentes en el microambiente en el que se halle la célula pluripotente se encuentre. Luego, las células mieloides pasan por un proceso de maduración dando como resultado células progenitoras; éstas ya tienen un linaje celular determinado que depende de la respuesta frente a un FC específico. En el caso de los monocitos los FC que interfieren en el proceso son IL-3, GM-CSF, M-CSF. Cuando estos factores están presentes la célula progenitora prolifera y se diferencia, dando como resultado promonocitos, células que en ulteriores divisiones generan monocitos. La diferenciación de la célula progenitora depende o está asociada con la expresión de receptores de la membrana para citoquinas específicas (9).

Los monocitos permanecen en la médula ósea por menos de 24 horas, luego pasan a la circulación y son distribuidos por todo el cuerpo. En esta etapa, se encuentran en los frotis de sangre periférica como células de mayor tamaño, cuyo diámetro oscila entre 15 a 30 μ m, las cuales poseen una alta relación núcleo/citoplasma. En adultos sanos normales, la vida media de un monocito circulante se estima en 70 horas (10), y con un recuento normal en sangre periférica entre 1% a 6% del total de leucocitos (Figura 2A). Una vez los monocitos se localizan en los tejidos se diferencian los macrófagos. Esta diferenciación (monocito a macrófago) involucra gran cantidad de cambios: la célula crece de 5 a 10 veces (Figura 2B), sus organelos incrementan tanto su número como su complejidad, adquiere habilidad fagocítica, produce altas concentraciones de enzimas líticas y empieza a secretar gran variedad de factores solubles. Los macrófagos son activados por gran variedad de estímulos en el curso de la respuesta inmune. La fagocitosis de antígenos sirve como estímulo inicial; sin embargo, los macrófagos y su actividad pueden incrementarse por citoquinas secretadas por linfocitos TH, productos bacterianos, etc. Uno de los más potentes activadores de macrófagos es el interferón gamma (ITF- γ) (9).

Una vez los monocitos se encuentran en la íntima, maduran a macrófagos fagocíticos que han sido activados y secretan FC y citoquinas. La activación, proliferación y supervivencia de monocitos y macrófagos en lesiones ateroscleróticas puede ser mediada por el factor estimulador de colonias de macrófago (M-CSF). Este M-CSF activa monocitos y media su crecimiento, transformación y supervivencia como macrófago en cultivo; también tiene propiedades quimioatrayentes. El M-CSF se ha demostrado en ateromas de ratas y humanos, y su expresión ha sido inducida por oxLDL en endotelio y CML, en parte a través de la activación del factor de transcripción nuclear κ B (NF κ B). La importancia del M-CSF en el proceso aterosclerótico se demostró en experimentos de ingeniería genética en ratones. Mediante dieta aterogénica, se alimentaron ratones híbridos que perdieron el receptor de LDL y fueron parcial o totalmente deficientes de M-CSF. No se formaron lesiones ateroscleróticas en aorta de ratones con deficiencia de M-CSF (11,12).

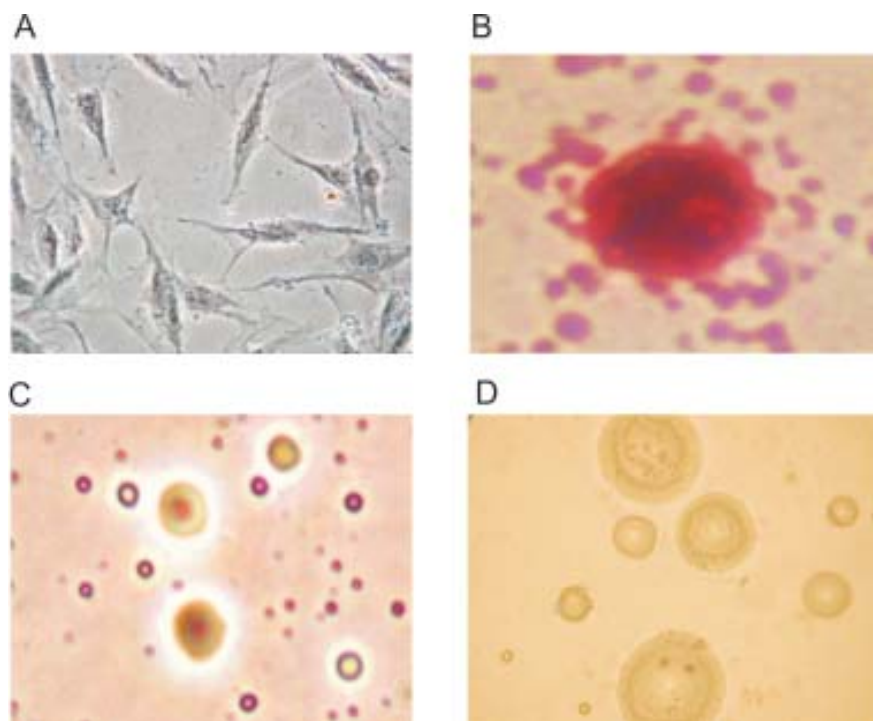


Figura 2. Cultivos celulares *in-vitro*. En el panel A se observan fibroblastos en cultivo. En el panel B se observan monocitos circulantes de conejos hipercolesterolémicos en cultivo. Monocitos color púrpura con la tinción para esterases no-específicas. 40X. El panel C muestra macrófagos residentes cultivados *in-vitro* procedentes de placas ateroscleróticas de conejos. Débil tinción para esterases no-específicas. 40X. En el panel D se observan células espumosas en cultivos *in-vitro*, procedentes de placas ateroscleróticas de conejos hipercolesterolémicos. Muy débil tinción para esterases no-específicas. 40X.

El M-CSF regula los niveles de lipoproteínas sistémicas y el procesamiento local de lípidos por células en la pared del vaso (13). De igual forma, reduce los niveles de colesterol en plasma humanos, primates no-humanos y conejos hipercolesterolémicos por aumentar la depuración de LDL a través de mecanismos dependientes o independientes de receptores de LDL. La capacidad del M-CSF para estimular la captura y degradación de lipoproteínas modificadas, puede explicar la movilización de lipoproteínas oxidadas del espacio extracelular y la generación de células espumosas (13).

Los leucocitos mononucleares coleccionados en la íntima, acumulan lípidos y se convierten en células espumosas, las células características de la placa aterosclerótica temprana. Una vez finalizada su actividad funcional sobreviene una degeneración: el núcleo se vuelve picnótico y en el citoplasma se observan vacuolas autofágicas que le confieren un aspecto espumoso (Figura 2C). Todas estas células tienen capacidad de migración, fagocitosis y actividad microbicida. La formación de células espumosas dentro del proceso de aterosclerosis juega un papel importante en el progreso de la placa a estadios más avanzados (ateroma). A través de señales locales (por ejemplo: PDGF, TGF β , NF κ B, IL-6 y PCR) se favorece la proliferación y migración de CMLV y una actividad en la síntesis de matriz extracelular (14).

Reclutamiento y activación de monocitos

Aunque los monocitos circulantes se pueden adherir al endotelio sano en animales normocolesterolémicos, esta adhesión se incrementa dramáticamente en presencia de hipercolesterolemia (15). El estudio de Sary y colaboradores (10) sobre arterias coronarias y aortas procedentes de autopsias en 1.160 sujetos (en el rango de edad recién nacidos-29 años), evidenció presencia de células espumosas procedentes de macrófagos aislados en la íntima de infantes. Mientras estas células se presentaron en 45% de los niños menores de 8 años, su número se redujo transitoriamente en pacientes cercanos a la pubertad e incrementó (73%) en niños entre 12 y 14 años cuando se encontraron grandes acumulaciones de células espumosas en el área de engrosamiento intimal.

La adhesión de monocitos a las áreas endoteliales traumatizadas ocurre temprano, luego de intervenciones terapéuticas, incluyendo implante de *stents* y endoprótesis vasculares, endarterectomías y angioplastias. Estos monocitos pueden diferenciarse rápidamente en monocitos activados, macrófagos y, finalmente, en macrófagos activados y células espumosas. Las señales

que estimulan el reclutamiento de monocitos a la lesión son bastantes y pueden originarse por productos encontrados en el plasma, productos secretados por células en crecimiento y por presencia de un cuerpo extraño. Algunos de los factores que inducen quimiotaxis en monocitos se enuncian en la tabla 1 (16).

Tabla 1
FACTORES QUIMIOTÁCTICOS DE MONOCITOS (16)

Interleukina-1
Trombina
PDGF
C5a
Fragmentos de colágeno
Elastina
Fibronectina
Calicreína
Activador de plasminógeno
Productos de CMLV
Productos de células endoteliales
Fibrinopéptidos
Fragmentos proteolíticos de IgG
Leucotrieno B4
Factor plaquetario 4

De acuerdo con las hipótesis más aceptadas, la migración transendotelial de monocitos al espacio subendotelial, se hace a través de las uniones intercelulares, en respuesta a los quimioatrayentes que existen dentro de la pared del vaso. El endotelio vascular sirve como «puerta» de entrada que regula el movimiento de moléculas y leucocitos, entre éstos los macrófagos. Para que los leucocitos circulantes entren a un tejido inflamado, se deben adherir al endotelio y pasar a través de las CE que rodean las paredes de los vasos sanguíneos, en un proceso llamado extravasación. Las CE y los monocitos expresan moléculas de adhesión celulares específicas (CAM) de las cuales se conocen cuatro familias: selectinas, mucinas, integrinas e inmunoglobulinas. Algunas de estas proteínas de membrana se expresan constitutivamente; otras se expresan sólo en respuesta a concentraciones localizadas de citoquinas producidas durante el proceso inflamatorio. Los monocitos expresan receptores de membrana que se unen a las CAM en el endotelio vascular, lo que les permite la adhesión y extravasación a los tejidos. A medida que la inflamación se desarrolla, una variedad de citoquinas y otros mediadores de inflamación actúan induciendo la expresión de CAM por parte del endotelio. Los monocitos reconocen el endotelio activado y se adhieren fuertemente a él; una vez unidos deben penetrar la capa endotelial y migrar hacia el subendotelio. En la primera fase de esta unión, los monocitos se unen con

baja afinidad al endotelio por medio de las selectinas. Estas selectinas (llamadas E y P) se unen a las CAM mucinas, localizadas en la membrana del monocito. Mientras esto sucede, el monocito es activado por varios quimioatrayentes que se encuentran localizados en la superficie de las CE o son secretados localmente por las células involucradas en la inflamación (9).

Dentro de los quimioatrayentes se encuentran miembros de una familia de citoquinas llamadas quimioquinas; dos de éstas son la IL-8 y la proteína inflamatoria del macrófago-1b (MIP-1b). La unión de estos compuestos a los receptores de la membrana del monocito, desencadena una señal de activación mediada por la proteína G asociada al receptor de la membrana. Esta señal induce un cambio conformacional de las integrinas de la membrana, incrementando su afinidad por las moléculas de adhesión de la superfamilia de las inmunoglobulinas presentes en las CE. Esta unión estabiliza la adhesión del monocito, lo que permite a la célula adherirse firmemente a la CE. Los pasos siguientes involucran la migración transendotelial del monocito a los tejidos a través de las uniones interendoteliales y a través de las células reticulares que conforman la pared vascular (9).

Los extractos de tejidos de aorta de animales (17, 18) han mostrado ser quimiotácticos para monocitos circulantes. Las CMLV de mandriles producen un potente quimioatrayente para monocitos circulantes, originalmente llamado factor quimiotáctico de CMLV (SMC-CF) (19), recientemente denominado péptido quimiotáctico de monocitos (MCP-1) (20).

El MCP-1 es la mayor sustancia quimiotáctica generada por la pared del vaso sanguíneo, y se encuentra bajo intensa investigación. El factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP) es un potente quimioatrayente de monocitos producido por plaquetas, CE, CMLV y macrófagos. La producción endotelial de FCDP se incrementa *in-vitro* luego que las CE se lesionan con endotoxinas o ésteres (21). Dentro del área del pannus en crecimiento seguido al implante de una endoprótesis vascular, las CE han demostrado tener una persistente actividad mitótica, sugiriendo que la CE traumatizada libera grandes cantidades de FCDP, lo cual favorece el reclutamiento de monocitos dentro del área. Los monocitos preferencialmente se adhieren a las áreas del trauma o de endotelio en reparación (22). Las citoquinas, incluyendo la IL-1, también incrementan la adhesión de monocitos al endotelio al alterar la expresión de las moléculas de adhesión celular (23). Otro potente factor

de atracción de monocitos incluye el leucotrieno B4 (LTB4) y el factor plaquetario 4 (PF-4). Así mismo, se han hallado varios quimioatrayentes de monocitos en el plasma, tales como péptidos derivados de complemento C5a y C5a *des arg*, fibrinopéptidos y trombina.

Los monocitos en cultivo obtenidos de sangre de pacientes hipercolesterolémicos, han mostrado ser más sensibles a quimioatrayentes que los monocitos obtenidos de cultivos de pacientes sanos (24). La evidencia experimental indica que las LDL-ox son potentes sustancias quimiotácticas para monocitos por la presencia de lisofosfatidilcolina PC (Lyso PC), un potente quimiotáctico de monocitos e inhibidor de la motilidad de macrófagos residentes (25-27), el cual promueve la entrada e inhibe la salida y fuga de macrófagos de la lesión en desarrollo.

La transcripción del gen MCP-1 en monocitos se induce («up-regulated») por la exposición a citoquinas tales como IL-1, TNF α , IFN α y GM-CSF (28). La secreción de MCP-1 por CE y CMLV incrementa la exposición de monocitos a IL-1 y TNF α (29). Usando técnicas de hibridación *in-situ*, el ARNm MCP-1 se detectó en 16% de las células cultivadas de especímenes de endarterectomía carotídea humana, presentando su más alta expresión en áreas de trombos organizados (33%) y en áreas ricas en macrófagos bordeando el núcleo lipídico (24%), comparados con la concentración en la capa fibrosa (8%) y dentro del núcleo lipídico (15, 30).

Interacción con la célula endotelial

Gran cantidad de monocitos se encuentran en depósitos periféricos unidos al endotelio, muchos en proceso de migración transendotelial para entrar a tejidos o cavidades serosas donde maduran y se convierten en macrófagos. En los últimos años se ha renovado el interés por conocer los mecanismos por los cuales el monocito se encuentra en capacidad de adherirse al endotelio y migrar al subendotelio. Muchos de los quimioatrayentes descritos previamente, tienen la capacidad de inducir moléculas de adhesión celular tanto en la CE como en el monocito. Citoquinas inflamatorias tales como IL-1 y TNF α , incrementan la expresión de moléculas como molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), molécula de adhesión endotelio-leucocito-1 (ELAM-1), proteína de membrana granular 140 (GMP-140), proteína de membrana externa granular dependiente de activación plaquetaria (PADGEM) y molécula de adhesión vascular 1 (VCAM-1).

Como se anotó anteriormente, las moléculas de adhesión celular (CAM) expresadas, pueden categorizarse en cuatro familias: selectinas (estructuralmente relacionadas a las lectinas), mucinas, integrinas y proteínas de la superfamilia de las inmunoglobulinas (31) (Tabla 2). Las selectinas son una familia de glicoproteínas de membrana que tienen una lectina en el extremo distal, lo que les permite unirse a grupos de carbohidratos específicos. No se expresa en CE no estimuladas, pero se producen rápidamente ante estímulos como IL-1, lipopolisacáridos (LPS), trombina, ésteres y TNF α . Las selectinas expresadas en la membrana endotelial incluyen la E-selectina (ELAM-1) y la P-selectina (PADGEM o GMP-140). Las selectinas son responsables de la adhesión inicial de los monocitos al endotelio vascular. Las mucinas, por su parte, son proteínas altamente glicosiladas, ricas en serina y treonina. Su estructura les permite presentar carbohidratos como ligandos a las selectinas. A esta familia pertenecen las moléculas CD33, Gly Cam-1 y PSGL-1. Las integrinas son proteínas expresadas por los monocitos constituidas por heterodímeros (α y β). Su función es facilitar la adherencia de estas células al endotelio, permitiendo la unión con las CAM pertenecientes a la superfamilia de las inmunoglobulinas expresadas por el endotelio vascular. Por último, la superfamilia de las inmunoglobulinas expresadas por las CE, incluye el VCAM-1 que es expresado en bajos niveles, pero induce citoquinas rápidamente. La ATHERO-ELAM es una VCAM-1 detectada en CE de aorta de conejos hipercolesterolémicos (32).

La regulación de la migración del monocito a través del endotelio se ha entendido pobremente; sin embargo, se conoce la participación de gradientes de densidad de sustancias quimiotácticas, tales como CD11a/CD18, CD11b/CD18 e ICAM-1 (33). Este proceso de migración, involucra también una actividad intensa del monocito en la síntesis y liberación de enzimas proteolíticas incluyen-

do elastasas, colagenasas y activadores de plasminógeno para facilitar el proceso.

Activación de macrófagos y productos de secreción

Tanto los monocitos como los macrófagos residentes en las lesiones de la pared arterial, se activan por mecanismos complejos. Entre éstos se encuentra la secreción de monoquinas específicas (IL-1, TNF α , IL-8, y GM-CSF), la presencia de bacterias o sus productos (LPS, proteínas de la superficie bacteriana), hipoxia o concentraciones altas de lactato (34, 35). Cuando los macrófagos se encuentran activados por la fagocitosis, liberan el contenido de sus gránulos lisosomales preformados. Una vez se activan los macrófagos, el monocito/macrófago responde inicialmente con cambios drásticos en la cadena respiratoria y con liberación de radicales libres de oxígeno y enzimas proteolíticas que llevan a la muerte y degradación de la matriz extracelular en el microambiente local (36).

Los macrófagos son conocidos por la capacidad de sintetizar y secretar más de 100 sustancias claramente identificadas, con pesos moleculares que varían en un amplio rango (aniones superóxido: 32 Da; fibronectina: 440.000 Da). Algunos de estos productos de secreción son constitutivos como la lisosima, componentes del complemento y la apolipoproteína E, mientras que otros se sintetizan solamente cuando la célula se activa o estimula. Las hidrolasas ácidas lisosómicas se liberan tempranamente luego de su activación por el complemento, citoquinas o productos bacterianos. Estas hidrolasas degradan la membrana basal y el colágeno e incluyen una variedad de proteasas, lipasas, ribonucleasas, deoxirribonucleasas, fosfatasa, glicosidasas y sulfatasas (37).

El macrófago activado tiene también la capacidad de sintetizar y liberar gran variedad de proteasas neutras, incluyendo colagenasas del tipo I, II, III y IV, elastasas, plasminógeno, enzima convertidora de angiotensina y cisteína proteasas. Las enzimas proteolíticas producen una gran degradación local de la matriz; además, los fragmentos locales de colágeno y elastina son potentes agentes quimiotácticos de monocitos que perpetúan el ciclo de reclutamiento celular, inflamación y trauma (38).

Evidencia reciente (39) sugiere el papel de las proteasas neutras derivadas de macrófagos en la patogénesis de los aneurismas arteriales. Se ha reportado pérdida del tejido elástico e incremento en la actividad elastolítica en la capa

Tabla 2

MOLÉCULAS DE ADHESIÓN ENDOTELIAL A LEUCOCITOS		
Familias	Tamaño (kD)	Adhesión celular
1. Selectinas		
a. E-selectina (ELAM-1)	115	PMN, monocito
b. P-selectina (GMP-140/PADGEM)	140	PMN, monocito
2. Inmunoglobulinas		
a. VCAM-1 (INCAM-110)	110	Linfocito, monocito
b. ICAM-1 (CD54)	100	Linfocito, monocito, PMN
c. ICAM-2	46	Linfocito, monocito, PMN

media del aneurisma humano. Estudios en aorta de ratas, demuestran lesiones semejantes con la perfusión de elastinas pancreáticas o mediante la infusión de macrófagos activados, indicando pérdida de la elastina arterial y formación de aneurismas.

Los monocitos humanos también son conocidos por la capacidad de expresión de grandes cantidades de factor tisular (TF) sobre la superficie celular. En presencia de fosfolípidos el TF incrementa la activación del factor VII de la vía extrínseca de la coagulación. El macrófago activado también expresa TF y otras moléculas que participan en la hemostasis tales como protrombina, factores II, VII, IX y XIII y activadores e inhibidores del plasminógeno. Los macrófagos, además, sintetizan y secretan productos derivados del ácido araquidónico, incluyendo prostaciclina y tromboxano, ayudando a modular la adhesividad de la plaqueta al endotelio y a fenómenos del tono vascular mediante el LTB₄. Monoquinas como la IL-1 y el TNF α pueden inducir síntesis y expresión de TF por la CE y favorecer una regulación negativa de la actividad de la proteína C endotelial, actividades que promueven la trombogénesis (40).

Célula espumosa

La célula espumosa derivada del macrófago, ha sido encontrada en la íntima de estrías grasas de niños y adultos. Constituye la evidencia más temprana de acumulación de lípidos en la pared arterial. Una vez el monocito reside en la íntima arterial, puede capturar lipoproteínas modificadas y acumularlas mediante receptores específicos, llevando a la conversión de estas células en células espumosas. Mediadores inflamatorios pueden influir en la expresión de estos receptores para lipoproteínas modificadas. Aunque esta área parece relativamente inexplorada el interferón α (IFN α), un producto de los linfocitos T_H encontrados en la placa aterosclerótica, favorece la expresión de receptores para lipoproteínas en macrófagos humanos (41). Otra citoquina que podría tener esta misma función es el M-CSF.

Metabolismo lipídico del macrófago

La acumulación de lípidos en la íntima arterial es un fenómeno central en el desarrollo de la aterosclerosis. La modificación del c-LDL en la pared arterial como consecuencia de la captura por parte de los macrófagos, es un fenómeno primordial en la formación de la placa aterosclerótica.

Mediante dos mecanismos los macrófagos recogen y degradan las lipoproteínas que contienen colesterol: a. Fagocitosis de aquellas células o fragmentos de membranas que contienen colesterol; b. Endocitosis mediada por receptores de lipoproteínas plasmáticas que se encuentran en solución o en complejos en formas insolubles con otros constituyentes tisulares. Esta endocitosis se da con la formación de pequeñas invaginaciones que contienen los receptores proteicos. Los macrófagos producen receptores de membrana que se unen específicamente a las LDL y las internalizan mediante endocitosis mediada por receptores. Luego de la endocitosis, las partículas de LDL se transportan a los lisosomas, donde hidrolasas degradan la apo-B a aminoácidos y clivan ésteres del colesterol a colesterol y ácidos grasos. El colesterol se incorpora directamente a la membrana celular o se re-esterifica y almacena dentro de la célula para uso posterior; los ácidos grasos se usan para hacer nuevos fosfolípidos o triglicéridos. La importancia de los receptores específicos para LDL se ha demostrado con formas mutantes de la proteína receptora de LDL; las personas que presentan esta condición padecen un desorden hereditario denominado hipercolesterolemia familiar (42).

Las LDL nativas no causan acumulación lipídica dentro de los macrófagos, primero éstas deben ser modificadas por diferentes procesos. La modificación oxidativa se presenta en las CE, las cuales pueden incorporar LDL nativas que pueden ser proteolíticamente modificadas por elastina, plasmina, calicreína o trombina. Las LDL dentro del espacio intimal se exponen a condiciones prooxidantes que las convierten en LDL-ox; en este estado inducen la expresión y secreción de M-CSF, GM-CSF, y G-CSF por parte de las CE (43). Igualmente, pueden estimular la secreción de quimioatrayentes específicos de monocitos incluyendo el MCP-1. Así, la oxidación de LDL promueve la captura de LDL-ox por parte de macrófagos, lo cual resulta en formación de células espumosas y producción de quimioatrayentes que contribuyen a la perpetuación y progresión de la lesión. Las LDL-ox inducen una respuesta inmunológica ya que se han detectado auto-anticuerpos a sus epítopes. También, estimulan la producción de TF por parte de macrófagos promoviendo un balance pro-trombótico en regiones de placa ricas en macrófagos (44).

Vínculo entre hipercolesterolemia y reclutamiento de monocitos

Resultados experimentales de años recientes han demostrado cómo factores de riesgo, por ejemplo hipercolesterolemia, pueden influir en la expresión local de moléculas de adhesión de leucocitos, y de esta

manera facilitar un reclutamiento local de células fagocíticas mononucleares en la lesión en formación. Los trabajos de Schwenke y Carew (45), documentaron el incremento en la concentración local de LDL en las regiones arteriales de aterogénesis en formación. Una explicación para la residencia prolongada del LDL en estas regiones, involucra una alteración local en la composición de proteoglicanos. Las partículas de LDL se unen preferencialmente a ciertas clases de proteoglicanos (especialmente los derivados del heparán sulfato), elaborados por las CE y las CMLV. Un perfil alterado de los proteoglicanos en los sitios de alteraciones hemodinámicas («shear stress») o la liberación local de mediadores inflamatorios, pueden promover la retención de c-LDL en la región subendotelial (46).

Las partículas de LDL que se unen a proteoglicanos en la íntima, con alta susceptibilidad a la oxidación, generan un ambiente que regula y favorece la expresión de moléculas de adhesión. La lisofosfatidilcolina puede activar la transcripción de VCAM-1 por parte de CE humanas (47); además, en ciertas concentraciones de LDL-ox puede aumentar o reducir la expresión de citoquinas por parte de CE y mononucleares fagocíticos *in-vivo* (48).

Papel del macrófago en las complicaciones agudas del ateroma

En arterias coronarias, una ruptura mecánica de la placa aterosclerótica expone los componentes internos de la placa a la circulación generando trombosis con las consecuencias clínicas de un síndrome coronario agudo (49). Evidencia reciente soporta el papel que tiene el macrófago/célula espumosa en la inestabilidad de la placa (50, 51). Los macrófagos pueden elaborar enzimas que degradan macromoléculas de la matriz extracelular. Estos constituyentes de la matriz, tales como formas intersticiales de colágeno, proveen una barrera estructural entre la sangre y los componentes trombogénicos de la placa. De este modo, enzimas tales como colagenasas, gelatinasas y estromelisininas tanto como las no-metaloenzimas (cisteín proteinasa, catepsinas S y O), pueden degradar los componentes de la matriz y hacer que una «placa vulnerable» se rompa (38, 52).

Una de las condiciones importantes para considerar una placa vulnerable con riesgo de ruptura, conversión a «placa culpable» y generación de un evento clínico agudo, es la presencia de mayor cantidad de macrófagos en diferentes regiones de la placa (principalmente hombros de la cápsula fibrosa); también, contribuyen otras condiciones tales como una delgada capa fibrosa, un

núcleo lipídico grande, escaso número de CMLV, poca síntesis de matriz extracelular y mayor presencia de neovascularización.

Aterogénesis e inflamación

La inflamación se define como la respuesta compleja a una herida o trauma localizado, la cual involucra varias células del sistema inmune y numerosos mediadores. En la respuesta inflamatoria se presenta vasodilatación e incremento en la permeabilidad de los capilares en el área afectada, debido a la liberación de histamina por parte de los mastocitos. Células blancas, nutrientes y fibrinógeno entran al área seguidos por neutrófilos y monocitos que luego se convierten en macrófagos. La mayoría de las respuestas inflamatorias son «down-regulated» por esteroides circulantes como el cortisol, y se activan por la interleukina 1 (IL-1). Es dependiente de la migración secuencial de las células efectoras desde sangre periférica hacia el sitio afectado en respuesta a la liberación de varias quimioquinas.

Los cambios patológicos en la pared arterial durante la aterogénesis resultan de una falla en la homeostasis normal vascular, la cual depende en gran parte de las funciones de los diferentes tipos de células que residen dentro de la pared del vaso (endotelio y CMLV). La adhesión del monocito a la CE en las áreas de lesión, es la evidencia anatómica más tempranamente identificable del desarrollo de la placa aterosclerótica. Ha sido descrita en una amplia variedad de modelos animales en aterosclerosis inducida experimentalmente, y mediante técnicas de inmunohistoquímica se ha demostrado la presencia del monocito en lesiones tempranas en arterias humanas durante necropsias (53-55). En el vaso enfermo ocurren interacciones del macrófago con células no vasculares (plaquetas, linfocitos y polimorfonucleares).

La aterogénesis, representa un tipo de inflamación crónica que involucra múltiples elementos de la respuesta inmune. Como en casos de inflamación crónica en otros órganos, las lesiones ateroscleróticas contienen cúmulos de células de la línea fagocítica mononuclear y linfocitos, proliferación de células estromales, síntesis y remodelación de matriz extracelular y neovascularización (Tabla 3). En estos aspectos inflamatorios de la aterosclerosis, se recapitulan muchas de las características de un granuloma en formación en respuesta a la reparación de heridas.

Tabla 3
CLASES DE LEUCOCITOS POTENCIALMENTE
INVOLUCRADOS EN LA ATEROGÉNESIS Y QUE
INTERACTÚAN CON MACRÓFAGOS

Células mononucleares
Fagocitos mononucleares
Monocitos
Macrófagos
Linfocitos
Células T
CD4 (Th1, Th2)
CD8
Células B
Células polimorfonucleares
Granulocitos
Eosinófilos
Células mastocíticas

Aspectos benéficos del macrófago en la placa aterosclerótica

Durante esta revisión se han descrito los aspectos funcionales y de mala adaptación del macrófago en la placa aterosclerótica; sin embargo, el macrófago puede ejercer efectos benéficos, potencialmente en capacidad de estabilizar o modular la progresión del ateroma. En la placa los macrófagos tienen la capacidad de sintetizar apolipoproteína E (56) la cual tiene una alta afinidad por receptores LDL periféricos. La asociación de Apo E con HDL favorece el catabolismo de lípidos a nivel periférico (57). Por esta vía, los macrófagos pueden generar una salida de ésteres de colesterol de la placa aterosclerótica, conocida como «transporte de colesterol reverso».

Bibliografía

- Libby T, Schwartz D, Brogi E, Tanaka H, Clinton SK. A cascade model for restenosis. *Circulation* 1992; (suppl III): III47-III52.
- Zwolak RM, Kirkman TR, Clowes AW. Atherosclerosis in rabbit vein grafts. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 374-379.
- Karnovsky ML. Metchinkoff in Messina: a century of studies on phagocytosis. *N Engl J Med* 1981; 304: 1178-1180.
- Anistchow E. Experimental atherosclerosis in animals. In: Cowdry EV, Eds. *Arteriosclerosis*. New York, MacMillan 1967. p. 271-322.
- Geer JC, McGill HC, Strong JP. The fine structure of human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1961; 34: 1764-1769.
- Scaffner T. Arterial foam cells with distinctive immunomorphological and histochemical features of macrophages. *Am J Pathol* 1980; 100: 57-80.
- Aschoff L. Das reticulo-enteliale system. *Ergeb Inn Med Kinderheilkd* 1924; 26: 1-118.
- Whitelaw DM. The intravascular lifespan of monocytes. *Blood* 1966; 28: 445-464.
- Cells and organs of the immune system. In: Immunology. Kuby, J Eds. W.H Freeman Co. New York; 1997. p. 47-83.
- Stary HC. Evolution and progression of atherosclerotic lesion in coronary arteries of children and young adults. *Arteriosclerosis* 1989; 9 (suppl I): 119-132.
- Rajavashisth T, Qiao JH, Tripathi S, et al. Heterozygous osteopetrotic (op) mutation reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest* 1998; 101: 2702-2710.
- Smith JD, Trogan E, Ginsberg M, Grigaux C, Tian J, Miyata M. Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoproteína E. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 8264-8268.
- Qiao JH, Tripathi J, Mishra NK, et al. Role of macrophage colony-stimulating factor in atherosclerosis: studies of osteopetrotic mice. *Am J Pathol* 1997; 150: 1687-1699.
- Libby P. Changing concepts in atherogenesis. *J Intern Med*. 2000;247:349-358.
- Gerrity RG, Naito HK, Richardson M, Schwartz CJ. Dietary-induced atherogenesis in swine. I. Morphology of the intima in prelesion stages. *Am J Pathol* 1979; 95: 775-792.
- Greisler HP. New biologic and synthetic vascular prostheses. Austin, TX:RG Landes Publishing Co. 1991.
- Gerrity RG, Goss JA, Soby L. Control of monocyte recruitment by chemotactic factor (s) in lesion-prone areas of swine aorta. *Arteriosclerosis* 1985; 5: 55-66.
- Denholm EM. Monocyte chemoattractants in pigeon aortic atherosclerosis. *Am J Pathol* 1987; 126: 464-475.
- Valente AJ, Fowler SR, Sprague EA, Kelley JL, Suemram CA, Scharzt CJ. Initial characterization of a peripheral blood mononuclear cell chemoattractant derived from cultured arterial smooth muscle cells. *Am J Pathol* 1984; 117: 409-417.
- Salvemini D, deNucchi G, Gryglewski RJ. Monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5134-5138.
- Fox PL, DiCorleto PE. Regulation of production of a platelet-derived growth factor-like protein by cultured bovine aortic endothelial cells. *J Cell Physiol* 1984; 121: 298-308.
- DiCorleto PE, De la Motte CA. Characterization of the adhesion of the human monocytic cell line U-937 to cultured endothelial cells. *J Clin Invest* 1985; 75: 1153-1161.
- Bevilacqua MP, Pober JS, Wheller ME, Cotran RS, Gimbrone MA. Interleukine-1 acts on cultured human vascular endothelium to increase the adhesion of polymorphonuclear leukocytes, monocytes, and related leukocyte cell lines. *J Clin Invest* 1985; 76: 2003-2011.
- Bath PM, Gladwin AM, Martin JF. Human monocyte characteristics are altered in hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 1991; 90: 175-181.
- Quinn MT, Parthasarathy S, Fong LG, Steinberg D. Oxidatively modified low density lipoproteins: a potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987; 84: 2995-2998.
- Quinn MT, Parthasarathy S, Steinberg D. Endothelial cell-derived chemotactic activity for mouse peritoneal macrophages and the effects of modified forms of low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985; 82:5949-5953.
- Quinn MT, Parthasarathy S, Steinberg D. Lysophosphatidylcholine: a chemotactic factor for human monocytes and its potential role in atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 2805-2809.
- Moore SK, Appella E, Lerman MJ, Leonard EJ. Human monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): full-length cDNA cloning, expression in mitogen-stimulated blood mononuclear leukocytes, and sequence similarity to mouse competence gene JE. *FEBS Letts* 1989; 244: 487-493.
- Wang JM, Sica A, Giuseppe P, Walter S, Padura IM, Libby P. Expression of monocyte chemotactic protein and interleukin-8 by cytokine-activated human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1991; 11: 1166-1174.
- Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest* 1991; 88: 1121-1127.
- Ferugi RM, DiCorleto PE. Mechanisms of monocyte recruitment and accumulation. *Bur Heart J* 1993; 69: S19-S29.
- Sluiter W, Elzenga-Claassen I, van der Voort van der Kley-van Andel, van Furth. Differences in the response of inbred mouse strains to the factor increasing monocytopoiesis. *J Exp Med* 1984; 159: 524-536.
- Furie MB, Tancinco MCA, Smith CW. Monoclonal antibodies to leukocyte integrins CD11a/CD18 and CD11b/CD18 or intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) inhibit chemoattractant-stimulated neutrophil transendothelial migration in vitro. *Blood* 1991; 78: 2089-2097.
- Pober JS, Cotran RS. Cytokines and endothelial cell biology. *Physiol Rev* 1990; 70: 427-451.
- Jensen JA, Hunt TK, Scheuenstuhl H, Banda MJ. Effect of lactate, pyruvate, and pH on secretion of angiogenesis and mitogenesis factors by macrophages. *Lab Invest* 1986; 54: 574-578.

36. Grabstein KH, Urdal DL, Tushinski RJ. Induction of macrophages tumoricidal activity by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Science* 1986; 232: 506-508.
37. Pantalone RM, Page RC. Lymphokine-induced production and release of lysosomal enzymes by macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 2091-2094.
38. Libby P. The molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 2844-2850.
39. Anidjar S, Salzmann J-L, Gentric D, Lagneau P, Campilleri JP, Michel JB. Elastase-induced experimental aneurysms in rats. *Circulation* 1990; 82: 973-981.
40. Nawroth PP, Stern DM. Modulation of endothelial cell haemostatic properties by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 1986; 163: 740-745.
41. Geng YJ, Hansson GK. Interferon-gamma inhibits scavenger receptor expression and foam cell formation in human monocyte-derived macrophages. *J Clin Invest* 1992; 89: 1322-1330.
42. Lodish H, Berck A, Zipursky S.L, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Protein sorting: Organelle biogenesis and protein secretion. In: *Molecular Cell Biology*. Eds. W.H. Freeman Co. 4th Edition; New York 2000. p. 675-780.
43. Rajavassisth TB, Andalibi A, Territo MC. Induction of endothelial cell expression of granulocyte and macrophage colony-stimulating factors by modified low density lipoproteins. *Nature* 1990; 344: 254-257.
44. Auger MJ, Ross JA. The biology of the macrophage. In: Lewis CE and McGee JO eds. *The natural immune system: The macrophage* New York. Oxford University Press 1992: 1-74.
45. Schwenke DC, Carew TE. Initiation of atherosclerotic lesions in cholesterol-fed rabbits. I. Focal increases in arterial LDL concentrations precede development of fatty streak lesions. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 895-907.
46. Wight TN. The extracellular matrix and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1995; 6: 326.
47. Kume N, Gimbrone M. Lysophosphatidylcholine transcriptionally induces growth factor gene expression in cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1994; 93: 907-911.
48. Peg HB, Rajavassisht TB, Libby P, Liao JK. Nitric oxide inhibits macrophage-colony stimulating factor gene transcription in vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 1995; 270: 17050-17055.
49. Falk E. Plaque rupture with severe pre-existing stenosis precipitating coronary thrombosis characteristics of coronary atherosclerotic plaques underlying fatal occlusive thrombi. *Br Heart J* 1983; 50: 127-134.
50. Libby P, Lee R. Role of activated macrophages and lymphocytes in rupture of coronary plaques. In: Braundwald E (ed). *Heart disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine*. Update, Philadelphia, WB Saunders 1995. p. 1-9.
51. Libby P, Geng YJ, Aikawa M. Macrophages and atherosclerotic plaque stability. *Curr Opin Lipidol* 1996; 7: 330-335.
52. Wilcox JN, Smith KM, Schwartz SM, Gordon D. Localization of tissue factor in the normal vessel wall and in the atherosclerotic plaque. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2839-2843.
53. Aqel NM, Ball RY, Waldmann H, Mitchinson MJ. Identification of macrophages and smooth muscle cells in human atherosclerosis using monoclonal antibodies. *J Pathol* 1985; 46: 197-204.
54. Klurfeld DM. Identification of foam cells in human atherosclerotic lesions as macrophages using monoclonal antibodies. *Arch Pathol Lab Med* 1985; 109: 445-449.
55. Johansson L, Holm J, Skalli O, Bondjer G, Hansson GK. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis* 1986; 6: 131-138.
56. Crespo P, Gonzalez C, Ordovas JM. Induction of apolipoprotein E gene expression in human and experimental atherosclerotic lesions. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 168: 733-740.
57. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: Implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Ann Rev Biochem* 1983; 52: 223-261.