

REVISIÓN

Interleukinas y reguladores de la hematopoyesis*

R. FERNÁNDEZ-DELGADO, I. ROSADO, F. J. MARES, T. NAVAS, y J. VILLARROYA

RESUMEN: Gracias al desarrollo de las técnicas de cultivo de progenitores hematopoyéticos «in vitro» y a los avances en biología molecular, en los últimos años, se ha descrito la existencia de reguladores de la proliferación y diferenciación de las células sanguíneas. Son conocidos con el nombre de Interleukinas o más genéricamente citokinas. Entre ellas existen moléculas con acción estimulante, otras potenciadoras y algunas capaces de inducir un efecto negativo o supresor. Ejercen su acción a través de receptores de membrana específicos para cada una de ellas, cuya expresión puede desempeñar un papel importante en la regulación celular. Mediante técnicas de ingeniería genética se ha podido llegar a la producción de cantidades importantes de algunas de estas citokinas (recombinantes), lo que ha permitido su utilización clínica, principalmente en situaciones de neutropenia congénita o adquirida. **PALABRAS CLAVE:** INTERLEUKINAS, CITOKINAS, HEMATOPOYESIS.

INTERLEUKINES AND HEMATOPOIESIS REGULATORS. (SUMMARY): The development in the last years of in vitro hematopoietic progenitor culture methods and the advances in molecular biology have allowed to describe the existence of proliferation and differentiation regulators of blood cells. These regulators are known as interleukines or generically cytokines. Some of them have direct stimulating action, others are enhancers and, finally, there are other cytokines with a negative or supressor effect. They bind to specific membrane receptors in order to produce their biological effects. The receptor expression on cell membrane may play an important role in cellular regulation. By means of genetic engineering techniques, important amounts of some cytokines have been produced (recombinant human cytokines). It has allowed their clinical use, specially in cases of congenital or acquired neutropenia. **KEY WORDS:** INTERLEUKINE, CYTOKINE, HEMATOPOIESIS.

INTRODUCCIÓN

Con la puesta a punto de los métodos de cultivo de células hematopoyéticas en medio semisólido y en medio líquido, desde mediados de la década de los sesenta, ha sido posible el conocimiento de los mecanismos que regulan la proliferación y

diferenciación de las células sanguíneas. El pronóstico de METCALF (1) «...se han identificado reguladores que esperan ser caracterizados por métodos de purificación, ya disponibles. Para los hematólogos han llegado los días dorados de la endocrinología, con el equivalente de nuevas insulinas u hormonas de crecimiento agazapadas a

vuelta de cada esquina— se ha cumplido con creces.

El punto de partida de estos trabajos supuso el cultivo de células tronco hematopoyéticas, que en presencia de medios condicionados con linfocitos estimulados o monocitos, eran capaces de originar colonias de distintos tipos celulares. Se incluían en estas experiencias dos conceptos diferentes: 1) En la población de células mononucleadas de la médula ósea u otros órganos hematopoyéticos, estaban contenidas ciertas células morfológicamente indiferenciables, pero con capacidad funcional de amplificación y diferenciación en las distintas estirpes hematológicas. Se denominó a estas células CFU (Colony forming unit); 2) Los medios condicionados contenían sustancias biológicamente activas, capaces de inducir proliferación y diferenciación de las células tronco hematopoyéticas. A estas moléculas se las denominó inicialmente CSF (Colony stimulating factor).

Desde entonces la caracterización de las células tronco hematopoyéticas y de los factores que regulan su proliferación y diferenciación ha supuesto multitud de trabajos por parte de diferentes equipos de investigación. Hoy se conoce la complejidad del compartimento de células hematopoyéticas y su estructura (Fig. 1) (2), la

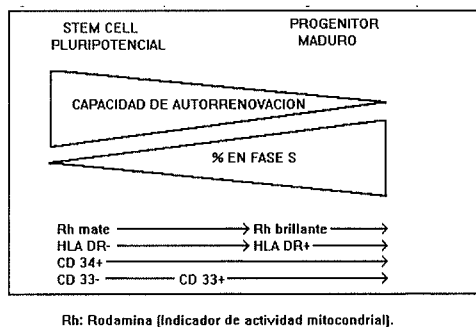


FIG. 1. Estructural compartimental de los progenitores hematopoyéticos. (2).

existencia de células muy primitivas con gran capacidad de autorenovación, y de células algo más diferenciadas, comprometidas en alguna de las estirpes hematopoyéticas, lo que obligatoriamente conlleva una menor capacidad de autorenovación. Se ha llegado de este modo a un esquema de la hematopoyesis, que, si bien es susceptible de cambio, presenta bastantes argumentos para aceptarlo como real (Fig. 2).

Se sabe también que el tránsito de las células primitivas hacia células maduras, su amplificación e incluso su supervivencia están gobernados por una serie de glicoproteínas reguladoras específicas o Factores de Crecimiento Hematopoyéticos. (3), entre los cuales se encuentran las moléculas inicialmente denominadas CSF, a las que se han añadido un grupo amplio de sustancias de nomenclatura compleja, genéricamente denominadas Interleukinas, en referencia a su lugar de producción y a sus células dianas, aunque estas características no siempre se cumplan. Estas glicoproteínas pueden englobarse dentro del grupo de moléculas naturales del organismo que tienen actividad biológica sobre procesos celulares como proliferación y diferenciación o CITOKINAS. La purificación de estas moléculas mediante métodos químicos ha permitido obtener su secuencia de aminoácidos y posteriormente sintetizar sondas de nucleótidos que codifiquen estas secuencias. Finalmente, se ha podido conocer el cDNA, y mediante el desarrollo de sistemas de alta expresión que permiten la producción masiva de moléculas funcionalmente activas (expresión de cDNA en levaduras o bacterias), se ha llegado a la producción masiva de interleukinas o Citokinas recombinantes (rhIL). Estas técnicas han permitido caracterizar funcionalmente los factores de regulación hematopoyética. Las citokinas intervienen en el control del crecimiento celular, la respues-

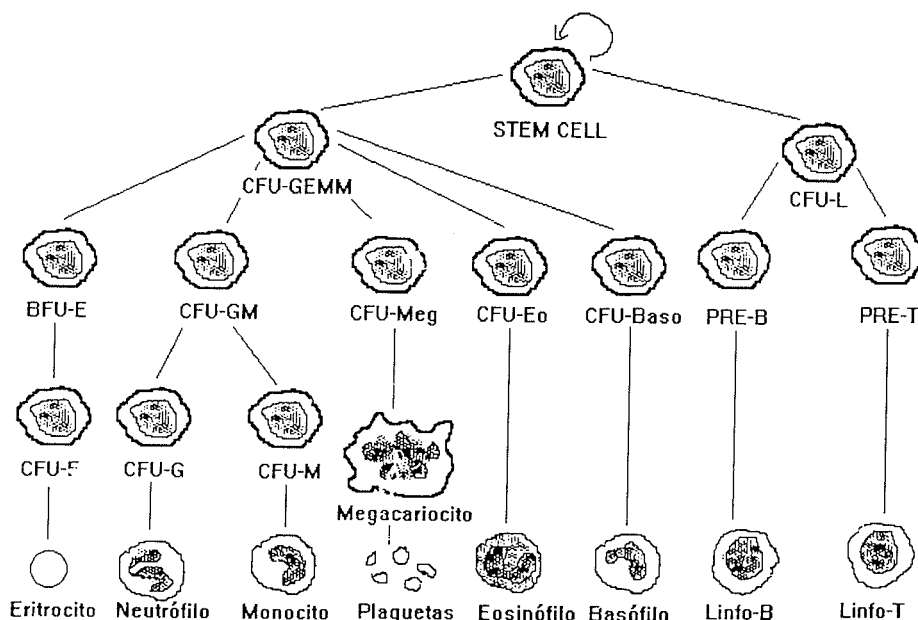


FIG. 2. *Compartimento hematopoyético*

ta inmune y la inflamación mediante una compleja red de moléculas y receptores específicos para cada una de ellas situados sobre la superficie de la célula diana (4). Los receptores de alta especificidad no se expresan de una forma constante en una célula determinada. Esta variabilidad de expresión, relacionada con el estado de activación celular, puede contribuir a la autoregulación de la respuesta a la acción de la citokina. El receptor al que se ha ligado una citokina traduce una señal al interior de la célula que origina una alteración en la transcripción genética, síntesis de proteínas y cambios en el estado metabólico de la célula. Al contrario que las hormonas endocrinas, que tienden a actuar a distancia del lugar de producción, las citokinas actúan localmente en algunos casos, dificultando su estudio y su utilización clínica.

CLASIFICACIÓN

De una forma esquemática, y teniendo presente que algunos factores pueden tener más de un tipo de acción o incluso acciones antagónicas, se puede clasificar a los factores reguladores de la hematopoyesis en tres grupos (5) (Tabla I):

1) *Factores estimuladores*: Son capaces de inducir «per se» proliferación de determinados progenitores hematopoyéticos. Dentro de este grupo existen dos subgrupos (6):

I) No específicos de línea, actúan sobre células muy primitivas y tienen especial importancia en la autorenovación y diferenciación celular.

II) Específicos de línea, actúan sobre progenitores tardíos y tienen especial importancia en la diferenciación final de las células sanguíneas.

TABLA I. CLASIFICACIÓN DE LOS FACTORES REGULADORES DE LA HEMATOPOYESIS

FACTORES ESTIMULADORES:

GM-CSF:	Granulocyte-macrophage colony stimulating factor
G-CSF:	Granulocyte colony stimulating factor
M-CSF:	Macrophage colony stimulating factor (CSF-1)
IL-5:	Interleukina 5 (Eos-CSF)
IL-3:	Interleukina 3 (Multi-CSF)
Epo:	Eritropoyetina
PIXY 321:	Proteína de fusión GM-CSF/IL-3

FACTORES POTENCIADORES

IL-1:	Interleukina 1
IL-2:	Interleukina 2
IL-4:	Interleukina 4
IL-6:	Interleukina 6
IL-7:	Interleukina 7
IL-8:	Interleukina 8
IL-9:	Interleukina 9
IL-10:	Interleukina 10
IL-11:	Interleukina 11
SCF:	Stem cell factor, Ligando de C-kit (KL), Factor Steel, Factor de crecimiento mastocitario (MGF).

Activina

FACTORES SUPRESORES

IFN:	Interferon alfa, beta, gama
TNF:	Tumor necrosis factor alfa, beta (linfotóxina)
MIP:	Macrophage inflammatory protein
TGF:	Transforming growth factor
LF:	Lactoferrina
HF:	Ferritina H
TF:	Transferrina

Inhibina

PGE:	Prostaglandina E-1, E-2
LIF:	Leukemic inhibitory factor

2) *Factores potenciadores*: No tienen actividad estimuladora propia, pero aumentan considerablemente la acción de los factores estimuladores.

3) *Factores supresores*: Peor caracterizados que los anteriores. Poseen una acción negativa directa o indirecta sobre la hematopoyesis.

INTERLEUKINA 1

La interleukina 1 hace referencia a dos glicoproteínas distintas, alfa y beta, que proceden de una molécula precursora común (pro-IL-1). Son moléculas homólogas entre sí sólo en un 25 %, pero capaces de unirse a los mismos receptores. Ambas están sintetizadas por genes distintos, localizados en el cromosoma 2 (7). Su producción es multicelular, localizándose básicamente en monocitos y macrófagos tisulares, y en menor medida en neutrófilos, microglía, células endoteliales, fibra muscular lisa, fibroblastos, células sinoviales, células dendríticas dérmicas, queratinocitos, epitelio intestinal y gingival, linfocitos T y B, células NK y otras. El estímulo fundamental para su producción es la endotoxina bacteriana, aunque también responde a otros productos microbianos y otras moléculas orgánicas (complemento, trombina, otras citocinas).

Se cree que hay dos tipos distintos de receptores de IL-1, aunque ambos presentan una estructura similar y ligan a los dos tipos de IL-1, pero IL-1 alfa tiene más afinidad por el receptor tipo 1, e IL-1 beta por el tipo 2. El receptor tipo 1 se encuentra en linfocitos T, fibroblastos, queratinocitos, células sinoviales, hepatocitos... El tipo 2 se localiza en linfocitos B, neutrófilos, y otras células de la médula ósea.

Posee diversos tipos de acciones biológicas (8):

— acción mediadora de la respuesta de fase aguda: sobre el hepatocito incrementa en gran medida la síntesis de cier-

tas proteínas (amiloide A del suero, reactivantes de fase aguda) e inhibe la de otras (albúmina, transferrina). A nivel de S.N.C. origina la aparición de sueño y fiebre (pirógeno endógeno). En hueso, sinovial y cartílago induce la producción de PGE-2 y colagenasa. Aumenta proliferación de fibroblastos. Además se ha demostrado la producción de hipotensión y depresión miocárdica cuando se administra a altas dosis, así como efectos catabólicos indirectos.

— acción inmunológica: Participa en la activación de linfocitos T actuando como coestimulador de la IL-2 y de forma sinérgica con IL-6. Se ha descrito también acción sobre linfocitos B en unión con IL-2, IL-4 e IL-6.

— acción hematopoyética: Su papel fundamental en la hematopoyesis radica en la inducción de la producción de citocinas por parte de las células del estroma medular, así como una acción sinérgica con dichas citocinas (IL-3, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, IL-6). La acción de la IL-1 es uno de los primeros acontecimientos en el proceso de proliferación y diferenciación de las células sanguíneas. Se ha adjudicado a IL-1 capacidad para inducir neutrofilia por reclutamiento de neutrófilos desde médula a sangre periférica (9).

— Otras acciones: Se ha implicado a la IL-1 en la proliferación de células mesangiales en ciertas glomerulopatías, en la patogenia de la diabetes, etc... (10).

Merece la pena destacar la existencia de mutaciones naturales de la Interleukina-1, capaces de fijarse al receptor, pero con una actividad hasta 200 veces menor, actuando como verdaderos antagonistas. Este hecho podría abrir, en el futuro, una posibilidad terapéutica en situaciones de exceso de IL-1 o de su receptor (11).

INTERLEUKINA 2

Es una citokina producida y secretada por linfocitos (sobre todo T CD4+, más que CD8+ y LGL), tras su activación por antígenos, mitógenos, IL-1..., y actúa fundamentalmente sobre células de estirpe linfoide, entre las que se encuentran los propios linfocitos T, así como los B y las células killer (LAK).

Se trata de una proteína glicosilada sintetizada por diversas especies animales y con semejante función. En la especie humana tienen un peso molecular de 15.5 KD y está formada por 133 aminoácidos con un puente disulfuro intramolecular que le confiere estabilidad (12).

A nivel de la célula T produce transformación blástica y expansión clonal (G1---> S). Se puede hablar de verdadera autoestimulación persistente, ya que induce la expresión de su receptor y la producción de la misma interleukina 2.

Sobre el linfocito B induce proliferación y diferenciación directamente y a través de las linfocinas secretadas por los linfocitos T activados.

Es capaz de facultar a la célula LAK (Lymphokine activated killer) para la destrucción de determinados tumores.

Se ha sintetizado la interleukina 2 humana mediante técnicas de ingeniería genética, introduciendo su gen (situado en el brazo largo del cromosoma 4) tanto en levaduras como en *E. coli*.

El receptor de elevada afinidad para la interleukina 2 está formado por dos subunidades (p55 o CD25 y p75). La subunidad p55 es de baja afinidad y la p75 de afinidad intermedia. La subunidad p75 es la que media la internalización de la IL-2 y la transmisión de la señal a la célula. El receptor de elevada afinidad se expresa en

linfocitos T y B activados. El de afinidad intermedia en LGL y células NK (13).

El uso de la IL-2 a nivel de laboratorio ha permitido la obtención de colonias T in vitro.

A nivel clínico se ha utilizado en casos avanzados de neoplasias (neuroblastomas, melanomas, carcinoma renal...) con esperanzadores resultados, a pesar de sus efectos secundarios importantes.

INTERLEUKINA 3

Se trata de una glicoproteína de p.m. 28 kD, cuya fracción proteica monomérica contiene 166 aminoácidos. El gen que codifica la producción de IL-3 humana se encuentra en el brazo largo del cromosoma 5, muy próximo al gen del GM-CSF, y en menor medida, a los de otras citocinas, de modo que se han relacionado deleciones del brazo largo del cromosoma 5 (5q) con síndromes mielodisplásicos y leucemias agudas. Su producción está restringida a los linfocitos T, monocitos y células natural killer (14). El receptor de IL-3 humana no ha podido ser bien caracterizado, sin embargo, su acción abarca un número amplio de células diana, tanto progenitores primitivos, comunes a la mayoría de estirpes hematopoyéticas, como sus descendientes más diferenciados. Así se ha comprobado estímulo proliferativo inducido por IL-3 en un abanico de células en la escala madurativa, que abarca desde la CFU-Blast, hasta las CFU-G, -M, -Mk, -Eos, -Baso. Su efectividad mayor parece radicar sobre células relativamente primitivas, con capacidad multipotencial (CFU-GEMM). También se ha demostrado actividad sobre la linfopoyesis, estimulando la proliferación y diferenciación de células T y B, pero no afectando las NK (15).

Se han descrito acciones de IL-3 sobre células mieloides maduras, que afectan

fundamentalmente a monocitos y macrófagos, prolongando su supervivencia in vitro y su actividad antitumoral, aunque este último efecto esté mediado probablemente por el TNF (factor de necrosis tumoral) (16). En relación al sistema inmune se ha comprobado estimulación IL-3 dependiente de las funciones macrofágicas relacionadas con la presentación de antígenos.

Recientemente (17), se ha descrito la construcción de proteínas de fusión IL-3/GM-CSF, conectando, mediante ingeniería genética las regiones que codifican la producción de ambos factores de crecimiento, e induciendo su expresión en levaduras. Estas proteínas, denominadas PIXY 321 (GM-CSF/IL-3) y PIXY 344 (IL-3/GM-CSF) muestran mayor afinidad por receptores y mayor actividad proliferativa que GM-CSF y/o IL-3 aisladas.

FACTOR STEEL

De descripción reciente, este factor de crecimiento pleiotrópico es capaz de ligarse al receptor codificado por el protooncogen c-kit. De ello deriva cierta confusión terminológica, habiendo sido llamado Ligando de kit (KL), Factor de crecimiento mastocitario (MGF) y Factor de crecimiento de stem cell (SCF). La denominación Factor Steel proviene del locus en que se sintetiza en el genoma murino. Se trata de una proteína de 27 kD, cuya actividad biológica aparece en su forma soluble o en la ligada a membrana (18). El gen que codifica su producción se encuentra en el cromosoma 12 (12q22-12q24). La producción de su receptor específico está codificada por el proto-oncogen c-kit, localizado en el cromosoma 4. Si bien en la especie murina existe una patología bien conocida, debida a alteraciones en el proto-oncogen c-kit y en el factor Steel, no se conoce todavía patología humana relacio-

nada con ellos. Su actividad biológica hematopoyética radica en la acción sobre células tronco muy primitivas sinérgicamente a otros factores de crecimiento, es decir, aumenta la capacidad proliferativa de progenitores primitivos que responden a otras citokinas (19). También se ha atribuido acción fundamentalmente eritropoyética, con incremento de producción de HbF.

GM-CSF

Es una glicoproteína de p.m. variable entre 14 y 35 kD, según su patrón de glicosilación. Estas variaciones en el p.m., no representan probablemente diferencias funcionales. El gen que codifica su producción se localiza en el brazo largo del cromosoma 5, en las bandas q21-32, cercano a otros factores de crecimiento (IL-3, M-CSF, receptor de M-CSF). El receptor de GM-CSF ha sido también clonado, localizándose en el cromosoma X. Se han descrito dos tipos de receptores, de alta y baja afinidad (20), que se expresan en células hematopoyéticas (CFU-GEMM, CFU-GM y BFU-E) y en células maduras (macrófagos y neutrófilos). Actúa fundamentalmente sobre el crecimiento y diferenciación de progenitores hematopoyéticos, fundamentalmente CFU-GEMM y CFU-GM. A mayores concentraciones y en presencia de otras citokinas tiene efecto inductor de proliferación y diferenciación de progenitores eritroides y megacariocíticos (21). También se ha atribuido a GM-CSF acciones sobre células maduras, participando en la regulación de la respuesta inmune. Su acción es tumoricida y bactericida, ya que aumenta la función de los neutrófilos induciendo fagocitosis, actuando como inhibidor de la migración y aumentando la presentación de antígeno. Además incrementa la citotoxicidad de eosinófilos y monocitos y la producción de citokinas (22). La acción de GM-CSF tiene carácter

local, no habiéndose detectado niveles séricos de esta proteína.

G-CSF

Es una glicoproteína de 20 kD, de la que se han descrito dos tipos diferentes: tipo a de 177 a.a., y tipo b de 174 a.a., que presenta una actividad 10 veces mayor (23). El gen que codifica su producción se encuentra en el brazo largo del cromosoma 17. Está producido por células endoteliales, monocitos, macrófagos y fibroblastos, que lo liberan ante estímulos infecciosos o bajo la inducción de otras citokinas (IL-1, TNF). Actúa como factor de crecimiento específico de línea, estimulando la proliferación, diferenciación y maduración de la serie neutrófila (CFU-G). Otros trabajos le atribuyen acción sinérgica con IL-3 en la activación de la entrada en el ciclo celular de las células tronco primitivas (24). Sobre las células maduras se ha descrito una acción similar a la de GM-CSF.

M-CSF

Se trata de un polipéptido dimérico con un P.M. variable entre 45-76 kD. El gen que codifica su producción se encuentra situado en el cromosoma 5q (25), en la misma región que el que codifica la síntesis de su receptor. M-CSF es sintetizado por fibroblastos, céls. endoteliales, monocitos y macrófagos. El receptor específico de M-CSF es el producto del proto-oncogen *c-fms* (26). Se trata de una proteína con actividad tirosin-kínasa presente en las células del sistema monocito-macrófago, sobre todo en líneas celulares malignas. M-CSF tiene, en realidad, una actividad proliferativa muy escasa, tratándose más bien de un factor de supervivencia o de activación de monocitos y macrófagos (27).

ERITROPOYETINA

La eritropoyetina humana, purificada a partir de orina de enfermos con anemia aplásica, es una glicoproteína de p.m. de 34 kD. Mediante clonación se ha obtenido la eritropoyetina humana recombinante (rhu-Epo), localizándose el gen que la codifica en el cromosoma 7, en las regiones q11-q22. Esta rhu-Epo, con una secuencia de aminoácidos y una estructura de carbohidratos muy similares a la Epo urinaria, tiene un p.m. de 30,4 kD y una mayor actividad biológica. En la estructura primaria existen dos aspectos fundamentales para mantener su función: la existencia de dos puentes disulfuro y la presencia de ácido siálico. La configuración terciaria es similar a la de la GH y otras citokinas (28). El principal órgano responsable de la producción de Epo es el riñón, y las células productoras se localizan en el intersticio peritubular proximal, fundamentalmente a nivel de la capa interna de la corteza renal. Se calcula que 5-10 % de la Epo circulante es de origen extrarrenal, producida por hepatocitos y células de Kupfer. Además, el hígado es el principal órgano de síntesis de Epo durante la vida fetal. También se ha implicado al sistema macrofágico (bazo y macrófagos medulares) en la producción de Epo (29). El estímulo que regula la síntesis y secreción de Epo es la hipoxia, capaz de producir un aumento del número de células productoras. Las células diana de la Epo son, fundamentalmente, los progenitores comprometidos de la serie eritroide (BFU-E, BFU-E madura, CFU-E), aunque también se ha demostrado un efecto estimulante sobre la megacariocitopoyesis (30). El nivel de acción más específico se realiza sobre la diferenciación final del compartimento eritroide, es decir sobre progenitores tardíos. La acción sobre la línea megacariocítica, mucho más discutida, también parece efectuarse sobre los progenitores más maduros.

El receptor de la Epo es una proteína de membrana similar a la de otras citokinas, cuyo gen codificador está localizado en el cromosoma 19 (19 pter-19q12) (31).

INTERLEUKINA 4

Anteriormente ha recibido otras denominaciones como factor de crecimiento o estimulante de linfocitos B (32). Se trata de una glicoproteína con un peso molecular entre 15 y 19 kD, formada por unos 140 aa. El gen que codifica su síntesis se localiza en el brazo largo del cromosoma 5, próximo a los genes de IL-3, IL-5 y GM-CSF (33). La producción fundamental de IL-4 está a cargo de una subclase de linfocitos T (TH-2), que también sintetizan IL-3, IL-5, IL-6 y GM-CSF. El receptor de la IL-4 es una proteína de membrana tipo I, similar al de otros factores de crecimiento. Se encuentran receptores de la IL-4 en los linfocitos B en reposo, linfocitos T, macrófagos, mastocitos, fibroblastos, células del estroma medular y otras células hematopoyéticas. Los efectos de la IL-4 se producen fundamentalmente sobre células de estirpe linfoide. Actúa sobre los linfocitos B en reposo favoreciendo su proliferación y respuesta a otros estímulos, así como dirigiendo la producción de IgE e IgG1. Sobre linfocitos T y células mastoides tiene también acción activadora. A nivel de la hematopoyesis tiene un efecto inhibitorio sobre la proliferación de GM-CFU, incluso en presencia de IL-3.

INTERLEUKINA 5

La IL-5 se conoce también como BCGF II (B cell growth factor II), factor promotor de IgA y Eos-CSF. Es una glicoproteína con un peso molecular de 50 a 60 kD y es sintetizada por un gen localizado en el brazo largo del cromosoma 5. Su principal

fuente de producción son los linfocitos T. Su efecto fundamental parece ser el de estimular la proliferación de colonias de eosinófilos a nivel medular. También actúa sobre linfocitos B induciendo la formación de IgA y sobre linfocitos T aumentando su capacidad citotóxica. Últimamente se ha descrito su relación con algunas situaciones patológicas, como el angioedema episódico (34).

INTERLEUKINA 6

La interleukina 6 ha recibido múltiples denominaciones como factor estimulante de células B, interferón beta 2, proteína 26kD, factor de crecimiento del mielomaplasmocitoma, factor estimulante de hepatocitos, factor diferenciador de granulocitos-macrófagos, etc. Se trata de un polipéptido de 184 aa con una estructura similar a G-CSF, lo que explicaría ciertas similitudes funcionales. El gen que codifica su síntesis se localiza en el cromosoma 7. La producción de IL-6 está a cargo de los linfocitos T, pero también la sintetizan otras células, como linfocitos B, monocitos, fibroblastos, queratinocitos, células endoteliales, astrocitos, células del estroma medular y células mesangiales. Hay distintos factores que incrementan su producción, como son la IL-1, TNF, INF beta y otros como los glucocorticoides, que la disminuyen. El receptor de la IL-6 es un polipéptido de 468 aa que posee 3 porciones: de superficie, transmembrana y citosólica (35).

La IL-6 posee actividades biológicas variadas (36):

— mielopoyesis: aumenta el número de CFU-Mk, el tamaño de los megacariocitos y el número de plaquetas circulantes, siendo su acción distinta de la trombopoietina (37). Sobre los progenitores multipotentes más inmaduros parece tener un

efecto sinérgico junto a la IL-3. Se le atribuye, junto a IL-1 y G-CSF capacidad para inducir la entrada en el ciclo celular de células tronco pluripotenciales en fase G-0 (38).

— linfopoyesis: interviene en la diferenciación final de los linfocitos B a plasmocitos, siendo uno de los factores primordiales en la producción de anticuerpos. Sobre los linfocitos T tiene un efecto activador actuando conjuntamente con la IL-2.

— reacciones de fase aguda: posee efecto estimulante de hepatocitos, induciendo la síntesis de reactantes de fase aguda.

— sistema nervioso: induce la secreción de un factor de crecimiento neuronal por parte de los astrocitos.

En cuanto a la relación de la IL-6 con situaciones patológicas está bien establecida su relación con el mieloma/plasmocitoma múltiple, siendo un factor de crecimiento potente para este tipo de células (39). Se atribuye también a IL-6 actividad antitumoral, habiéndose relacionado, en animales de experimentación, el nivel endógeno de IL-6 con el volumen tumoral, y demostrándose protección contra la extensión tumoral por la administración de IL-6 (40).

INTERLEUKINA 7 y 8

La Interleukina 7 tiene su fuente en células del estroma medular. El gen que codifica su producción se encuentra en el brazo largo del cromosoma 8. Actúa como factor regulador de la diferenciación de las células B, aunque también se le atribuye un papel en la megacariocitopoyesis.

La IL-8 es una citokina con capacidad de activar neutrófilos y aumentar la quimiotaxis. Es producida fundamental-

mente por monocitos, pero también por macrófagos alveolares, células endoteliales y fibroblastos, en respuesta a lipopolisacárido bacteriano, IL-1 y TNF. Podría jugar un papel importante en la patogenia del distress respiratorio del adulto y en las reacciones transfusionales por incompatibilidad ABO (41).

INTERLEUKINAS 9, 10, 11

Las interleukinas 9, 10 y 11 son, probablemente, de menor importancia hematopoyética. La IL-9 actuaría sobre progenitores primitivos de la línea eritroide y megacariocítica. Se atribuye a la IL-11 un papel semejante al asignado a la IL-6 (42).

CITOKINAS SUPRESORAS

Aunque ocasionalmente se haya negado la existencia de citokinas supresoras y se haya argumentado que la hematopoyesis estaría regulada exclusivamente por estímulos positivos, siendo el estímulo negativo en realidad la ausencia de estimulación positiva, hoy se acepta la existencia de citokinas que desempeñan un papel importante como reguladores negativos de la hematopoyesis. Entre ellas se encuentran (43):

Factor de necrosis tumoral (TNF)

Se trata de una familia de proteínas de acción compleja producidas por células del sistema monocito-macrófago y en menor medida por linfocitos T, timocitos, linfocitos B, células de la musculatura lisa y fibroblastos transformados. Su producción está codificada por genes muy próximos al complejo mayor de histocompatibilidad (44). Su acción puede ser llevada a cabo mediante liberación local de la molécula secretora o por contacto directo célula-célula. Existen receptores específicos de

alta afinidad para TNF, inducidos ocasionalmente de forma autocrina en monocitos, timocitos, linfocitos B. El TNF es capaz de inhibir la formación de colonias derivadas de CFU-GEMM, BFU-E y CFU-GM, pero también posee otros efectos como la inducción de la síntesis de GM-CSF por los fibroblastos o la activación de los neutrófilos (45).

Ferritina H

La subunidad H de la ferritina (ácida), tanto en forma purificada natural como recombinante, es capaz de inhibir la formación de colonias de progenitores maduros e inmaduros. Esta inhibición afecta a los progenitores que se encuentran en ciclo, es dosis-dependiente y parece estar ligada a la actividad ferrooxidasa de la ferritina.

Lactoferrina

La acción inhibitoria de la lactoferrina es indirecta, mediante la supresión de la liberación de CSF o IL-1. Esta acción es neutralizada por IL-6 o lipopolisacárido bacteriano.

Proteína inflamatoria macrofágica (MIP)

Estas proteínas secretadas por los macrófagos de las que se conocen tres subtipos (1-alfa, 1-beta y 2), pueden mostrar acción potenciadora sobre el desarrollo de los progenitores hematopoyéticos maduros in vitro, sobre todo, cuando se utilizan concentraciones subóptimas de CSF como estimulante, sin embargo, se ha atribuido a MIP 1-alfa una acción supresora sobre la proliferación de progenitores hematopoyéticos primitivos.

Prostaglandinas E

La PGE-1 y la PGE-2 pueden mostrar acción inhibitoria sobre los progenitores monocitarios (CFU-M), en menor medida sobre los GM y los comprometidos en la

línea granulocítica (CFU-G). También en este caso se ha descrito una acción contraria, objetivándose la capacidad de potenciar el crecimiento de colonias derivadas de BFU-E.

Interferones

Este grupo de moléculas de propiedades fundamentalmente antivirales, presentan una acción antimitótica sobre células normales y leucémicas. Ello justifica la actividad inhibidora del crecimiento de colonias derivadas de CFU-GEMM y BFU-E, y en menor medida de CFU-GM. El interferon gamma, sin embargo, puede inducir la síntesis de CSF por monocitos y linfocitos T, poseyendo, pues, una acción estimulante indirecta.

Inhibina-factor transformador del crecimiento (TGF-BETA)

La Inhibina y la Activina componen una familia de moléculas de acción variable sobre diversos órganos, habiéndose demostrado su intervención en la libera-

ción de FSH de células de la glándula pituitaria y de forma indirecta, a través de monocitos y linfocitos T, en el crecimiento de CFU-GEMM y BFU-E. El TGF-beta, por su parte, podría tener una acción inhibidora directa sobre progenitores hematopoyéticos primitivos.

CONCLUSIONES

Gracias a los progresos en el conocimiento de la hematopoyesis y en las técnicas de genética molecular, en los últimos se han podido purificar y posteriormente producir moléculas recombinantes de gran cantidad de reguladores hematopoyéticos.

Algunos de estos reguladores presentan actividad tanto in vitro como in vivo, y están siendo utilizados actualmente con fines terapéuticos.

Otros, peor caracterizados, no han podido ser utilizados todavía en clínica, aunque de su actividad in vitro, se pueden inferir acciones terapéuticas valiosas.

BIBLIOGRAFIA

1. METCALF, D.: *Hemopoietic colonies. (In vitro cloning of normal and leukemic cells)*. 1977. Springer-Verlag. Berlín-Heidelberg.
2. MOORE, MAS: *Clinical implications of positive and negative hematopoietic stem cell regulators*. Blood 1991, 78: 1-19.
3. METCALF, D.: *Haemopoietic growth factors now cloned*. Br. J. Haematol. 1986; 62: 409-412.
4. WINDEBANK, K. P.: *The cytokines are coming*. Arch. Dis. Child. 1990; 65: 1283-1285.
5. BROXMEYER, H. E., LU, L., VADHAN-RAJ, S., SHEN, R. N.: *Hematopoietically active cytokines: Roles for therapy of malignant disease with an emphasis on clinical trials with colony stimulating factors*. En Hoffbrand, A. V., Brenner, M. K. (eds.). Recent advances in Haematology, vol. 6 1992. Churchill Livingstone. Edinburgh. pp. 195-207.
6. SHAIHIDI, N. T.: *Hematopoiesis and hematopoietic growth factors*. Am. J. Ped. Hematol. Oncol. 1991; 13: 373-375.
7. OPPENHEIM, J. J.; KOVACS, E. J.; MATSUHIMA, K.; DURUM, S. K.: *There is more than one interleukin 1*. Immunol. Today 1986; 7: 45-56.
8. DINARELLO, C. A.: *Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute phase response*. N. Engl. J. Med. 1984; 311: 1413-1418.
9. IDO, M.; HARADA, M.; FURUICHI, H. *et al.*: *Interleukin 1-induced sequential myelorestoration: Dynamic relation between granulopoiesis and progenitor cell recovery in myelosuppressed mice*. Exp. Hematol. 1992; 20: 161-166.
10. DINARELLO, C. A.: *Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism*. Blood 1991; 77: 1627-1652.

11. SECKINGER, P.; DAYER, J. M.: *Interleukin-1 inhibitors*. Ann. Inst Past/Immunol 1987; 138: 461-475.
12. ROBB, R. J.: *Interleukin-2: The molecule and its function*. Immunol Today 1984; 5: 203-209.
13. ALLOUCHE, M.; SAHRAOUI, Y.; AUGERY-BOURGET, Y.: *Interleukin 2 receptors*. Leuk Res 1990; 14: 699-703.
14. HOLBROOK, S. T.; CHRISTENSEN, R. D.: *Hematopoietic growth factors*. En Barnes, L. A., Devivo, D. C., Morrow G. III., Oski, F., Rudolph, A. M. (eds.). Advances in Pediatrics, vol. 38, 1991. Mosby. Chicago, pp. 23-49.
15. GUBA, S. C.; STELLA, G.; TURKA, L. A. et al.: *Regulation of interleukin 3 gene induction in normal human T cells*. J. Clin. Invest. 1989; 84: 1701-1706.
16. CANNISTRA, S. A.; VELLENGA, E.; GROSHEK, P. et al.: *Human granulocyte-monocyte colony stimulating factor and interleukin 3 stimulate monocyte cytotoxicity through a tumor necrosis factor dependent mechanism*. Blood 1988; 71: 672-676.
17. CURTIS, B. M.; WILLIAMS, D. E.; BROXMEYER, H. E. et al.: *Enhanced hematopoietic activity of a human granulocyte-macrophage colony stimulating factor-interleukin 3 fusion protein*. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 5809-5813.
18. LYMAN, S. D.; WILLIAMS, D. E.: *Biological activities and potential therapeutic uses of Steel factor. A new growth factor active on multiple hematopoietic lineages*. Am. J. Ped. Hematol. Oncol. 1992; 14: 1-7.
19. BROXMEYER, H. E.; COOPER, S.; LU, L. et al.: *Effect of murine mast cell growth factor (c-kit protooncogene ligand) on colony formation by human marrow hematopoietic progenitor cells*. Blood 1991; 77: 2142-2149.
20. WALKER, F.; BURGESS, A. W.: *Specific binding of radioiodinated GM-CSF to hemopoietic cells*. EMBO J. 1985; 4: 933-939.
21. ROBINSON, B. E.; MCGRATH, H. E.; QUESENBERRY, P. J.: *Recombinant murine GM-CSF has megakaryocyte colony-stimulating activity and augments megakaryocyte colony stimulation by IL-3*. J. Clin. Invest. 1987; 79: 1648-1652.
22. COFFEY, R. G.: *Mechanism of GM-CSF stimulation of neutrophils*. Immunol. Res. 1989; 8: 236-248.
23. NAGATA, S.; TSUCHIYA, M.; ASANO, S. et al.: *Molecular cloning and expression of a c-DNA for human granulocyte colony-stimulating factor*. Nature 1986; 319: 415-418.
24. OGAWA, M.: *Effects of hemopoietic growth factors on stem cells in vitro*. Hematol. Oncol. Clin. N. Amer. 1989; 3: 453-464.
25. KAWASAKI, E. S.; LADNER, M. B.; WANG, A. M. et al.: *Molecular cloning of complementary DNA encoding human macrophage-specific colony-stimulating factor (CSF-1)*. Nature 1985; 230: 291-296.
26. SHERR, C. J.; RETTENMIER, C. W.; SACCA, R. et al.: *The c-fms proto-oncogene product is related to the receptors for the mononuclear phagocyte growth factor CSF-1*. Cell 1985; 41: 665-676.
27. TUSHINSKI, R. J.; OLIVER, I. T.; GUILBERT, L. J. et al.: *Survival of mononuclear phagocytes depends on a lineage-specific growth factor that the differentiated cells selectively destroy*. Cell 1982; 28: 71-81.
28. REMACHA, A. F.: *Fisiología de la eritropoyetina. Papel en la eritropoyesis*. Biol. Clin. Hematol. 1992; 14: 1-16.
29. KRANTZ, S. B.: *Erythropoietin*. Blood 1991; 77: 419-474.
30. SHIKAMA, Y.; ISHIBASHI, T.; KIMURA, H. et al.: *Transient effect of erythropoietin on thrombocytopoiesis in vivo in mice*. Exp. Hematol. 1992; 20: 216-222.
31. JONES, S. S.; D'ANDREA, A. D.; HAINES, L. A.; WONG, G. G.: *Human erythropoietin receptor: Cloning, expression and biologic characterization*. Blood 1990; 76: 31-35.
32. PAUL, W. E.: *Nomenclature of lymphokines which regulate B-lymphocytes*. Mol. Immunol. 1984; 21: 343.
33. PAUL, W. E.: *Interleukin-4: A prototypic immunoregulatory lymphokine*. Blood 1991; 77: 1859-1870.
34. BUTTERFIELD, J. H.; LEIFERMAN, K. M.; ABRAMS, J. et al.: *Elevated serum levels of interleukin 5 in patients with the syndrome of episodic angioedema and eosinophilia*. Blood 1992; 79: 688-692.
35. YAMASAKI, K.; TAGA, T.; HIRATA, Y. et al.: *Cloning and expression of the human IL-6 (BSF-2/IFN Beta) receptor*. Science 1988; 241: 825-827.
36. KISHIMOTO, T.: *The biology of interleukin 6*. Blood 1989; 74: 1-10.
37. McDONALD, T. P.; COTTRELL, N. B.; SWEARINGEN, C. J. et al.: *Comparative effects of thrombopoietin and IL-6 on murine megakaryocytopoiesis and platelet production*. Blood 1991; 77: 735-740.
38. ASANO, S.; OKNO, A.; OZAWA, K. et al.: *In vivo effects of recombinant human interleukin 6 in primates: stimulated production of platelets*. Blood 1990; 75: 1602-1605.
39. KAWANO, M.; HIRANO, T.; MATSUDA, T.; TAGA, T.: *Autocrine generation and essential re-*

- quirement of BSF-2/IL-6 for human multiple myelomas. *Nature* 1988; 332: 83-84.
40. MULE, J. J.; MCINTOSH, J. K.; JABLONS, D. M.; ROSENBERG, S. A.: *Antitumor activity of recombinant interleukin 6 in mice*. *J. Exp. Med.* 1990; 171: 629-636.
41. DAVENPORT, R. D.; STRIETER, R. M.; STANDFORD, T. J.; KUNKEL, S. L.: *Interleukin-8 production in red blood cell incompatibility*. *Blood* 1990; 76: 2439-2442.
42. VAINCHENKER, W.: *Hématopoïèse et facteurs de croissance*. Editions Techniques. *Encycl Med Chir (Paris-France), Hematologie*, 13000 M 85, 1991, p. 16.
43. BROXMEYER, H. E.: *Suppressor cytokines and regulation of myelopoiesis*. Biology and possible clinical uses. *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 1992; 14: 22-30.
44. SPIES, T.; MORTON, C. C.; NEDOSPASOV, S. A.: *et al.*: *Genes for the tumor necrosis factors alfa and beta are linked to the human major histocompatibility complex*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986; 83: 8699-8702.
45. SCHLEUNING, M.; MUNKER, R.: *Tumor necrosis factor: An update on basic research and clinical applications*. *Klin Wochenschr* 1990; 68: 841-846.

Petición de Separatas:

RAFAEL FERNÁNDEZ-DELGADO
Departamento de Pediatría
Facultad de Medicina.
Avenida Blasco Ibáñez, 17
46010 VALENCIA