

ARTICULO ORIGINAL

Modulación de la expresión de la L-selectina por agentes quimiotácticos y GM-CSF

Carlos J. Montoya, Paula A. Velilla, Adriano M. Martínez, Juan C. Olarte

Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

La L-selectina es una molécula de adhesión que se expresa constitutivamente en la membrana de los granulocitos, monocitos y linfocitos, células en las cuales interviene en los procesos iniciales de migración hacia los sitios de inflamación y órganos linfoides. Una vez que dichas células son activadas, la L-selectina experimenta un proceso de regulación negativa con la liberación de un fragmento soluble. Con el objetivo de analizar el efecto de algunos agentes quimiotácticos fisiológicos y un estimulante artificial sobre la expresión de la L-selectina en la superficie de los granulocitos de sangre periférica, se evaluó ésta por citometría de flujo en leucocitos no estimulados y luego de su incubación con un éster de forbol (PMA), dos agentes quimiotácticos (fMLP y LTB₄) y una citocina (GM-CSF). En condiciones basales, la expresión de la L-selectina se encontró en un porcentaje alto ($95,03 \pm 0,67$); la estimulación con PMA indujo una disminución notable en la expresión de esta molécula ($3,16 \pm 0,63$). Los factores quimiotácticos llevaron también a una reducción significativa ($69,89 \pm 4,96$ para LTB₄ y $53,70 \pm 4,30$ para fMLP), mientras que la incubación con GM-CSF no produjo cambios significativos con respecto a la expresión basal ($89,08 \pm 4,81$). Al comparar las diferentes condiciones de estimulación entre ellas, se observó que el efecto del PMA fue significativamente mayor que los demás estímulos; además, cuando se comparó la reducción de la expresión generada por el fMLP y el LTB₄ también se encontró que entre ellas existía una diferencia estadísticamente significativa. Estos resultados sugieren que el grado de activación alcanzado por los granulocitos se relaciona directamente con la capacidad para liberar la L-selectina desde su superficie, siendo ésta menos intensa después de la acción de estímulos fisiológicos como los agentes quimiotácticos; si bien el GM-CSF activa funciones importantes en la fisiología de los granulocitos, no induce la pérdida de la L-selectina desde la membrana celular.

Palabras clave: L-selectina, granulocitos, agentes quimiotácticos, GM-CSF.

Modulation of L-selectin expression by chemotactic factors and a cytokine, GM-CSF

L-selectin is an adhesion molecule with constitutive expression located on the membrane of granulocytes, monocytes and lymphocytes. It is involved in the early stages of migration of these cells toward either the sites of inflammation or lymphoid tissues. After the cells are activated, L-selectin is down-regulated with shedding of a soluble fragment. Flow cytometry was used to measure L-selectin expression levels on the granulocyte surface, after incubation with a phorbol ester (PMA), two chemotactic factors (fMLP and LTB₄) and a cytokine (GM-CSF). Under basal conditions, the expression of L-selectin was found in a high percentage (95.0 ± 0.7) of granulocytes; PMA stimulation led to a marked decrease in expression (3.2 ± 0.6). Chemotactic factors also led to a significant decrease in L-selectin expression (69.9 ± 5.0 for LTB₄, and 53.70 ± 4.3 for fMLP), whereas the incubation with GM-CSF produced no significant changes (89.1 ± 4.8). When all the conditions were compared, the PMA effect was significantly higher than those observed with other stimuli; furthermore, the expression upon incubation with fMLP and LTB₄ was statistically significant. These results suggest that the level of activation reached by granulocytes is directly related to their capacity for shedding L-selectin from the cell surface, and that these levels are lowered after the stimulation by chemotactic factors. GM-CSF activates several important functions of granulocyte cells, however it does not induce L-selectin shedding.

Key words: L-selectin, granulocytes, chemotactic factors, GM-CSF.

En la cascada de eventos propios de las reacciones inflamatorias, uno de los pasos más importantes es el arribo de los leucocitos a los sitios sometidos a una injuria, células que buscan controlar los factores responsables de la agresión tisular. Este fenómeno ha sido bien estudiado y se sabe que ocurre en un proceso de múltiples pasos que comprenden el rodamiento y la adhesión firme de los leucocitos al endotelio activado, la migración transendotelial y el movimiento de las células a través de la matriz extracelular siguiendo un gradiente quimiotáctico (1-3).

Esta disposición de los leucocitos en condiciones de eliminar al agente agresor no se presenta al azar, sino que es el producto de la acción coordinada de una compleja red de interacciones celulares magistralmente orquestada por un grupo heterogéneo de proteínas de superficie, conocidas como moléculas de adhesión, y por factores quimiotácticos de diversa naturaleza entre los que se cuentan citocinas proinflamatorias, quimioquinas, fracciones del complemento y componentes de la pared bacteriana, entre otros (1). Los agentes quimiotácticos modulan la expresión de las moléculas de adhesión y crean un gradiente químico que permite la migración de los leucocitos (4).

Las moléculas de adhesión, clasificadas en selectinas, integrinas, caderinas y las pertenecientes a la superfamilia de las inmunoglobulinas, no sólo están involucradas en el óptimo funcionamiento del sistema inmune, sino que intervienen decisivamente en procesos fisiológicos tan relevantes como la embriogénesis, la hemostasia, el control de las neoplasias y la reparación de heridas (1,5,6).

La familia de las selectinas consta de tres miembros, E, P y L-selectinas, denominadas así por haber sido identificadas originalmente en el endotelio, las plaquetas y los leucocitos respectivamente. La L-selectina (también conocida como MEL-14, LECAM-1, LAM-1 o CD62-L) fue

descrita inicialmente como un receptor para la ubicación selectiva de los linfocitos, por sus propiedades para guiar la migración de estas células a los nódulos linfoides periféricos; sin embargo, investigaciones posteriores pusieron en evidencia que participa ampliamente en diversos procesos de adhesión (6,7). Tiene la particularidad de ser la única selectina de expresión constitutiva en la membrana celular, hallándose en más del 60% de los linfocitos circulantes, en prácticamente todos los monocitos y granulocitos y en un subgrupo de células asesinas naturales. En su forma madura consta de 333 aminoácidos, 17 de los cuales se encuentran en la cola citoplasmática; los 11 residuos C terminales interactúan con la actina del citoesqueleto por medio de un complejo de actinina y vinculina. Hasta el momento se han reconocido 4 ligandos para L-selectina, las moléculas GlyCAM-1, MadCAM-1, CD34 y Sgp200.

Una característica que distingue la L-selectina de los demás miembros de su familia es el modo especial de regulación; diversos estímulos que incluyen quimioatrayentes, citocinas y ésteres de forbol inducen la liberación de un fragmento soluble de dicha molécula (8,9). Estimulando linfocitos de ratones BALB/c con ésteres de forbol, Preece y col. identificaron una metaloproteína de membrana dependiente de zinc responsable de la proteólisis de L-selectina (10,11). El significado fisiológico de este fenómeno no se conoce aún con exactitud, pero se ha propuesto que la pérdida de L-selectina permitiría que los leucocitos se desprendan de la superficie luminal de la pared vascular e iniciaran la migración entre las células endoteliales (10); además, los fragmentos solubles de esta molécula se unirían a sus ligandos en las células endoteliales adyacentes al sitio de la inflamación y de esta forma bloquearían la unión de otros granulocitos para restringir su acceso a la zona de la injuria.

En este estudio nos propusimos evaluar el efecto que tienen varios agentes quimiotácticos fisiológicos sobre la regulación de la expresión de la L-selectina, pues son pocos los trabajos que abordan el análisis comparativo de este fenómeno. Para ello, se utilizó un activador artificial potente como el forbol-miristato-acetato (PMA) y se

Correspondencia:
Carlos Julio Montoya
cjmonto@catios.udea.edu.co

Recibido 18/04/01; aceptado: 10/12/01

comparó su efecto con agentes quimiotácticos de origen celular como el leucotrieno B4 (LTB4) y microbianos como el N-formil-metionil-leucina-fenilalanina (fMLP), además de una citocina con acción particular en la activación de los granulocitos como el factor estimulante de la línea granulocítica monocítica (GM-CSF).

Materiales y métodos

Sujetos de estudio

El estudio se realizó en quince individuos voluntarios sanos, de ambos sexos, con edades comprendidas entre los 18 y los 30 años, seleccionados de acuerdo con los siguientes criterios de exclusión: fumador habitual, ingestión de bebidas alcohólicas en las últimas 72 horas; consumo crónico de cualquier tipo de medicamento; padecimiento de alergias u otras afecciones crónicas con mecanismos inmunológicos reconocidos. Para la realización de la investigación, se obtuvo el consentimiento informado de todos los individuos estudiados.

Medición de la expresión de la L-selectina en la superficie de los granulocitos

La expresión de la L-selectina en muestras de sangre venosa periférica se evaluó mediante citometría de flujo, analizando la región de los granulocitos. Las muestras se incubaron con diversos agentes estimulantes de acción fisiológica (fMLP, LTB4, GM-CSF) y no fisiológica (PMA); se comprobó que estos factores activadores conservaban la actividad biológica al observar su capacidad para activar la explosión respiratoria mediante una cinética de producción de anión superóxido (reducción del ferrocitocromo C por espectrofotometría; no se muestran los resultados). La determinación de la dosis y el tiempo de incubación necesarios para que cada agente ejerciera su efecto óptimo se obtuvo por medio de cinéticas de estandarización, las que permitieron seleccionar las siguientes concentraciones finales y la duración de la incubación: GM-CSF (Promega, G534A) a 10 ng/ml, 60 minutos; fMLP (Sigma, F-3506) a $4,5 \times 10^{-7}$ M, 60 minutos; LTB4 (Calbiochem) a $1,5 \times 10^{-4}$ M, 120 minutos, y PMA (Sigma, P-8139) a 200 ng/ml, 15 minutos.

Brevemente, el protocolo seguido fue el siguiente: de cada individuo se obtuvieron 5 ml de sangre venosa periférica en un tubo con anticoagulante EDTA (Becton Dickinson); 100 ml de sangre se depositaron en tubos de polipropileno de 12 x 75 mm y se incubó a 37 °C en baño María con los diferentes estímulos a las concentraciones y tiempos indicados. Luego, se adicionaron 5 µl de un anticuerpo monoclonal, CD62L-FITC (Pharmingen, L-Selectina Clon: Dreg-556), y se incubó en oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente. Después, se realizó la lisis de los eritrocitos con 2 ml de *buffer* de lisis 1X (Facs Lysis Reagent, Becton Dickinson), haciendo una nueva incubación en oscuridad por 10 minutos. A continuación, se lavaron las células con 2 ml de *buffer* de citometría (PBS, pH 7,37, suero bovino fetal al 1% (Gibco) y ázida de sodio al 0,1%) centrifugando a 1.500 rpm durante 7 minutos y a 20 °C; se aspiró el sobrenadante y las células se fijaron con *buffer* de fijación (PBS, pH 7,2, paraformaldehído al 1% (Carlo Erba) y ázida de sodio al 0,1%). El porcentaje de granulocitos que expresaban la L-selectina se determinó en un citómetro de flujo (Coulter Epics XL).

Análisis estadístico

Los datos se analizaron con el programa estadístico Prisma; para cada condición de estimulación se determinó la media aritmética y el error estándar del porcentaje de granulocitos que expresaban la L-selectina. La significancia estadística se evaluó por medio de la prueba t de Student. Los valores p significativos (<0,0500) se corrigieron con la prueba de Mann Whitney.

Resultados

Por medio de citometría de flujo se determinó el porcentaje de los granulocitos que expresaba la L-selectina luego de las diferentes condiciones de estimulación; cuando se hizo el análisis de esta expresión midiendo la intensidad media de la fluorescencia no se encontraron diferencias con los valores obtenidos por el primer método.

Al evaluar el efecto de los diferentes estímulos sobre la expresión de la L-selectina en la superficie de los granulocitos, se observaron diferencias significativas con respecto a las condiciones basales (células sin estímulo) (figura 1).

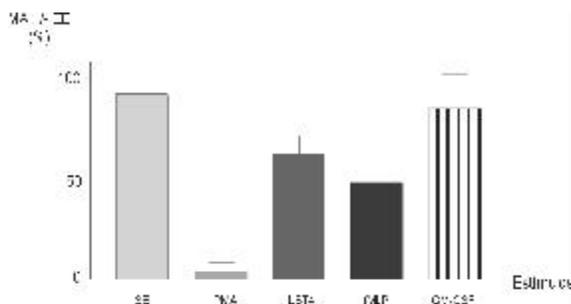


Figura 1. Expresión de la L-selectina en la superficie de los granulocitos en condiciones basales y su modulación por diferentes estímulos artificiales y fisiológicos.

MA ± EE: media aritmética y error estándar del porcentaje de expresión de la L-selectina en la superficie de los granulocitos; SE: sin estimulación; PMA: forbol-miristato-acetato; LBT4: leucotrieno B4; fMLP: N-formil-metionil-leucina-fenilalanina; GM-CSF: factor estimulante de la línea granulocítica monocítica.

Expresión basal de la L-selectina

En las muestras no estimuladas, se observó que la L-selectina se encontraba en un alto porcentaje de los granulocitos ($95,03 \pm 0,67$), lo cual indica una expresión constitutiva de esta molécula en los fagocitos circulantes.

Expresión de la L-selectina luego de un estímulo artificial

La incubación de las muestras con el PMA indujo un cambio dramático en la expresión de la L-selectina en los granulocitos, pues disminuyó hasta apenas un $3,16 \pm 0,63$.

Expresión de la L-selectina luego del estímulo con agentes quimiotácticos fisiológicos

El tratamiento de las muestras con LTB4 y fMLP también originó una reducción importante de la expresión de la L-selectina en la membrana de los granulocitos ($69,89 \pm 4,96$ y $53,70 \pm 4,30$, respectivamente), aunque el efecto fue menos notable con respecto al observado con el PMA.

Expresión de la L-selectina luego de la activación con el GM-CSF

La incubación de las células de sangre periférica con el GM-CSF originó un cambio muy leve en la expresión superficial de la L-selectina ($89,08 \pm 4,81$), con relación al nivel basal.

Comparación del efecto de los diferentes estímulos sobre la expresión de la L-selectina en la superficie de los granulocitos

El análisis comparativo del efecto de cada condición de estimulación sobre la expresión de la L-selectina se realizó para evaluar la magnitud de la acción de los diferentes agentes artificiales y fisiológicos, encontrando diferencias estadísticamente significativas de importancia (cuadro 1).

Con relación a la expresión basal de la L-selectina (granulocitos no estimulados), se observó una disminución muy significativa luego de estímulo con PMA ($p < 0,0001$), LTB4 ($p = 0,0003$) y fMLP ($p = 0,0001$), fenómeno que no se observó después de la incubación con el GM-CSF ($p = 0,2367$).

Cuando se tomó como referencia un activador artificial potente de las células fagocíticas como el PMA, se encontró que, si bien los agentes quimiotácticos fisiológicos disminuyen la expresión de la L-selectina en la superficie de los granulocitos, existe una diferencia significativa entre la reducción inducida por el PMA y la lograda por el LTB4 ($p = 0,0003$), el fMLP ($p = 0,0005$) y el GM-CSF ($p < 0,0001$).

La comparación entre el efecto alcanzado por la incubación con los dos agentes quimiotácticos

Cuadro 1. Comparación del efecto de los diferentes estímulos artificiales y fisiológicos sobre la expresión de la L-selectina en la superficie de los granulocitos.

Estímulo referente (MA ± EE)	Estímulos por comparar (MA ± EE)	P
Sin estímulo ($95,03 \pm 0,67$)	PMA ($3,16 \pm 0,63$)	$< 0,0001$
	LTB4 ($69,89 \pm 4,96$)	0,0003
	fMLP ($53,70 \pm 4,30$)	0,0001
	GM-CSF ($89,08 \pm 4,81$)	0,2367
PMA ($3,16 \pm 0,63$)	LTB4 ($69,89 \pm 4,96$)	0,0003
	fMLP ($53,70 \pm 4,30$)	0,0005
	GM-CSF ($89,08 \pm 4,81$)	$< 0,0001$
LTB4 ($69,89 \pm 4,96$)	fMLP ($53,70 \pm 4,30$)	0,0206
	GM-CSF ($89,08 \pm 4,81$)	0,0093
fMLP ($53,70 \pm 4,30$)	GM-CSF ($89,08 \pm 4,81$)	0,0012

MA ± EE: media aritmética y error estándar del porcentaje de expresión de la L-selectina en la superficie de los granulocitos; PMA: forbol-miristato-acetato; LBT4: leucotrieno B4; fMLP: N-formil-metionil-leucina-fenilalanina; GM-CSF: factor estimulante de la línea granulocítica monocítica.

fisiológicos, LTB4 y fMLP, mostró que existía una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,0206$) debida a la mayor reducción en la expresión de la L-selectina inducida por el estímulo con fMLP.

Con respecto al GM-CSF, el análisis comparativo mostró que la expresión de la L-selectina luego de este estímulo no variaba significativamente con relación a la encontrada en condiciones de reposo ($p=0,2367$), pero sí existía una diferencia estadísticamente significativa cuando se comparaba con la expresión observada para los otros estímulos: PMA ($p<0,0001$), LTB4 ($p=0,0093$) y fMLP ($p=0,0012$).

Modulación de la expresión de la L-selectina en la población de linfocitos

Como un control interno para los experimentos que evaluaron la modulación de la expresión de la L-selectina en los granulocitos, se analizó la presencia de esta molécula en la región de los linfocitos; en las muestras no estimuladas se encontró que la L-selectina se expresaba en la superficie de un alto porcentaje de los linfocitos ($97,33 \pm 1,25$), lo que está de acuerdo con la expresión constitutiva de la L-selectina en estas células. Similar a lo observado en los granulocitos, la activación con PMA redujo significativamente la expresión de la L-selectina en los linfocitos ($12,49 \pm 0,98$). Como era de esperarse, la incubación de las muestras con los agentes quimiotácticos y el GM-CSF no tuvo ningún efecto significativo sobre la expresión de la L-selectina en los linfocitos (LTB4: $96,95 \pm 3,65$; fMLP: $93,80 \pm 4,43$; GM-CSF: $98,79 \pm 2,49$).

Discusión

La generación de formas solubles de los receptores de superficie celular se ha relacionado con la regulación de muchas funciones celulares como el desencadenamiento de fenómenos que conducen a enfermedad. Los receptores solubles se pueden formar por proteólisis de la molécula unida a la membrana o por un *splicing* alternativo del mRNA que da origen a un polipéptido que carece de región transmembrana; ambas condiciones involucran la liberación de un fragmento proteico al medio extracelular. Las

moléculas de adhesión, algunos de los miembros de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral y los receptores con acción tirosina-cinasa comparten la propiedad de producir dichos fragmentos solubles (12). En este trabajo, informamos sobre el efecto diferencial de un éster de forbol (PMA), dos agentes quimiotácticos (fMLP, LTB4) y una citocina (GM-CSF) para promover el desprendimiento de la L-selectina desde la superficie de los granulocitos.

El PMA fue el estímulo que generó la liberación más abundante y rápida de la L-selectina; otras investigaciones han puesto en evidencia este mismo efecto dependiente del PMA, tanto en neutrófilos como en linfocitos (8,13). Puesto que el PMA es un activador directo de la proteína cinasa C (PKC) citoplasmática, estos hallazgos sugieren que la PKC puede mediar la pérdida de la L-selectina actuando probablemente sobre la proteasa que propicia su hidrólisis (13).

Los factores quimiotácticos originaron una liberación de la L-selectina significativamente menor y más tardía que el PMA, lo cual está de acuerdo con el largo recorrido que debe hacer la señalización generada desde los receptores con siete dominios transmembrana para lograr la activación de la PKC. Además, el efecto producido por el fMLP fue más potente que el observado con el LTB4, lo cual puede deberse a que los péptidos formilados actúan más temprano que los leucotrienos y a que estos últimos necesitan una regulación positiva previa de sus receptores (14).

Se conoce que el GM-CSF tiene efectos importantes sobre la supervivencia y función de los granulocitos, aumenta la adhesión y la quimiotaxis, la citotoxicidad dependiente de anticuerpos y la producción de anión superóxido por los neutrófilos estimulados con fMLP (15). Griffin y colaboradores observaron que el tratamiento con GM-CSF inducía una pérdida rápida de la L-selectina desde la superficie de neutrófilos presentes en diversas preparaciones (sangre total, aislados por *buffy coat* y altamente purificados); aunque este efecto dependió de la incubación de las células con el GM-CSF, el procedimiento de separación usado influyó en gran medida el nivel de expresión de L-selectina,

puesto que dicha expresión fue mayor en las preparaciones de sangre total, lo cual indica una activación de los neutrófilos durante el proceso de separación (9). Un efecto similar del procedimiento de separación sobre la expresión de la L-selectina se observó también en monocitos (16).

Para evitar al máximo este fenómeno dependiente de la manipulación para la separación celular, en el desarrollo de esta investigación se utilizó un método que permite la evaluación directa del efecto del GM-CSF y los otros estímulos sobre los granulocitos de sangre periférica, sin procesos de separación o manipulaciones que pudieran activar las diferentes poblaciones celulares. Con esta metodología no se observó un cambio significativo en la expresión de la L-selectina en la superficie de los granulocitos de sangre total después de la incubación con el GM-CSF.

Nuestros resultados son contrarios a los de otros estudios realizados en sangre periférica, que muestran un efecto modulador del GM-CSF sobre la L-selectina; los alcances metodológicos de esta investigación no permiten obtener información para dar una explicación más clara acerca del origen de estos resultados antagónicos. Sin embargo, este mismo resultado lo hemos obtenido repetidamente en otras investigaciones cuando evaluamos la expresión de la L-selectina en los granulocitos de controles y pacientes con inmunodeficiencias primarias (enfermedad de Job, inmunodeficiencia común variable) y no observamos un efecto modulador del GM-CSF sobre la expresión de la L-selectina (manuscrito en preparación). Este y otros resultados evidencian que la acción fisiológica del GM-CSF, como en muchas otras citocinas, no se realiza en forma aislada y requiere de la acción concomitante de otros estímulos presentes en un microambiente particular, como el fMLP, para generar sus efectos (15); comprobar esta hipótesis demanda la realización de nuevas investigaciones que evalúen el efecto de los diferentes factores quimiotácticos tanto en forma aislada como en combinación.

La liberación de la L-selectina es un fenómeno bien documentado, que ocurre en los neutrófilos que transitan por los vasos sanguíneos de los

tejidos sometidos a una injuria y en los linfocitos que atraviesan el endotelio venular alto de las placas de Peyer y los ganglios linfáticos. Diversos hallazgos experimentales apoyan la hipótesis según la cual el desprendimiento rápido de la L-selectina permitiría que los neutrófilos y linfocitos se despeguen del endotelio y puedan migrar a través de él o desplazarse en la matriz extracelular, facilitando, por una parte, los procesos de recirculación de los linfocitos y la quimiotaxis de los neutrófilos y, por la otra, evitando que los neutrófilos arriben a sitios por fuera de la zona de injuria (8,13,17).

También se ha visto que la proteólisis de la L-selectina es importante en la interacción inicial de esta molécula con su ligando y puede limitar la agregación y acumulación de los leucocitos (18). De otro lado, la hidrólisis de la L-selectina no parece requerirse para la transducción de señales intracelulares, puesto que la construcción de un receptor quimérico que contenía la región extracelular de la L-selectina y el dominio intracelular de Fas permitió observar que la presencia del sitio donde se verifica la ruptura de la L-selectina no era esencial para desencadenar la señal que conducía a la muerte apoptótica en las células que portaban dicho receptor quimérico (19).

Los niveles plasmáticos de L-selectina soluble (sL-selectina) se encuentran alterados en diversas condiciones patológicas. Niveles elevados se han documentado en pacientes con diabetes mellitus insulino-dependientes, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, niños con meningoencefalitis y en una proporción de pacientes con leucemia aguda y leucemia meníngea (20,21); también se hallaron niveles elevados de sL-selectina en el suero de pacientes sometidos a diálisis con membranas de celulosa, un fenómeno que puede estar relacionado con la granulocitosis observada durante este procedimiento y la disminución de la función de los granulocitos en pacientes tratados con hemodiálisis crónica (22). Al contrario, niveles disminuidos de sL-selectina se encontraron en neonatos, pacientes neutropénicos después del trasplante de médula ósea y en pacientes con diabetes mellitus tipo II sintomáticos para enfermedad coronaria (21,23). La importancia que

tienen estos niveles anormales de sL-selectina en la fisiopatología de estas enfermedades no se conoce con exactitud.

Considerando el papel que cumple la L-selectina en la fisiología de las células fagocíticas y la asociación que existe entre los niveles de sL-selectina y algunas enfermedades, el avance en el conocimiento de los eventos fisiológicos que conducen a la producción del fragmento soluble de esta molécula será importante para el diseño de estrategias terapéuticas que mejoren el curso clínico de aquellas enfermedades donde la regulación de la L-selectina esté comprometida.

En la actualidad, sólo se encuentran disponibles sustancias que inhiben las vías enzimáticas responsables de la generación de leucotrienos (antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos), así como bloqueadores de la acción de estos quimiotácticos sobre su receptor (anti-leucotrienos); no hay medicamentos disponibles para antagonizar los efectos del fMLP. La producción de ligandos solubles para la neutralización de la sL-selectina es una estrategia viable a la luz del desarrollo tecnológico actual, pero deberían cumplir con el requisito de una acción transitoria debido a la importancia que tiene la L-selectina en la recirculación de los linfocitos vírgenes por los órganos linfoides secundarios.

Agradecimientos

Los autores expresan su profundo agradecimiento con Fabiola Toro y Liliana Arango de la Unidad de Citometría de Flujo de la Universidad de Antioquia, por su invaluable colaboración en el análisis de las muestras de los diferentes experimentos.

Referencias

1. **Carlos TM, Harlan JM.** Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood* 1994;84:2068-101.
2. **Bartholdy C, Marker O, Thomsen AR.** Migration of activated CD8+ T lymphocytes to sites of viral infection does not require endothelial selectins. *Blood* 2000;95:1362-9.
3. **Shimizu Y, Newman W, Tanaka Y, Shaw S.** Lymphocyte interactions with endothelial cells. *Immunol Today* 1992;13:106-12.
4. **Crockett-Torabi E.** Selectins and mechanism of signal transduction. *J Leukoc Biol* 1998;63:1-13.
5. **Drillenburger P, Pals ST.** Cell adhesion receptors in lymphoma dissemination. *Blood* 2000;95:1900-10.
6. **Kishimoto TK, Rothlein R.** Integrins, ICAMs and selectins: role and regulation of adhesion molecules in neutrophil recruitment to inflammatory sites. *Adv Pharmacol* 1994;25:117-69.
7. **Kansas GS.** Selectins and their ligands: current concepts and controversies. *Blood* 1996;88:3259-79.
8. **Kishimoto TK, Jutila MA, Berg EL, Butcher EC.** Neutrophil Mac-1 and MEL-14 adhesion proteins inversely regulated by chemotactic factors. *Science* 1989;245:1238-41.
9. **Griffin JD, Spertini O, Ernst TJ, et al.** Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and other cytokines regulate surface expression of the leukocyte adhesion molecule-1 on human neutrophils, monocytes, and their precursors. *J Immunol* 1990;145:576-84.
10. **Preece G, Murphy G, Ager A.** Metalloproteinase-mediated regulation of L-selectin levels on leucocytes. *J Biol Chem* 1996;271:11634-40.
11. **Gu B, Bendall LJ, Wiley JS.** Adenosine triphosphate-induced shedding of CD23 and L-selectin (CD62L) from lymphocytes is mediated by the same receptor but different metalloproteases. *Blood* 1998;92:946-51.
12. **Heaney ML, Golde DW.** Soluble receptors in human disease. *J Leukoc Biol* 1998;64:135-46.
13. **Jung TM, Gallatin WM, Weissman IL, Dailey MO.** Down-regulation of homing receptors after T cell activation. *J Immunol* 1988;141:4110-7.
14. **Ben-Baruch A, Michiel DF, Oppenheim JJ.** Signals and receptors involved in recruitment of inflammatory cells. *J Biol Chem* 1995;270:11703-6.
15. **Gasson JC.** Molecular physiology of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1991;77:1131-45.
16. **Lundahl J, Halldén G, Hallgren M, Sköld CM, Hed J.** Altered expression of CD11b/CD18 and CD62L on human monocytes after cell preparation procedures. *J Immunol Meth* 1995;180:93-100.
17. **Munro JM, Briscoe DM, Tedder TF.** Differential regulation of leukocyte L-selectin (CD62L) expression in lymphoid and inflamed extralymphoid tissues. *J Clin Pathol* 1996;49:721-7.
18. **Walcheck B, Kahn J, Fisher JM, et al.** Neutrophil rolling altered by inhibition of L-selectin shedding in vitro. *Nature* 1996;380:720-3.
19. **Ishiwatari-Hayasaka H, Kawashima H, Osawa T, Nagata S, Miyasaka M.** Induction of cell death by chimeric L-selectin-Fas receptors. *Int Immunol* 1997;9:627-35.
20. **Stucki A, Cordey A-S, Monai N, de Flaugergues J-C, Schapira M, Spertini O.** Cleaved L-selectin

- concentrations in meningeal leukaemia. *Lancet* 1995;345:286-9.
21. **Bührer C, Herold R, Stibenz D, Henze G, Obladen M.** Cerebrospinal fluid soluble L-selectin (sCD62L) in meningoencephalitis. *Arch Dis Child* 1996;74:288-92.
22. **Kawabata K, Nagake Y, Shikata K, Makino H, Ota Z.** The changes of Mac-1 and L-selectin expression on granulocyte and soluble L-selectin level during hemodialysis. *Nephron* 1996;73:573-9.
23. **Albertini JP, Valensi P, Lormeau B, Vaysse J, Attali JR, Gattegno L.** Soluble L-selectin level is a marker for coronary artery disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 1999;22:2044-8.

ANUNCIO

Búsqueda activa de pacientes

**Grupo de Inmunodeficiencias Primarias
Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia
Medellín, Colombia**

El Grupo de Inmunodeficiencias Primarias tiene como objetivo central ofrecer una atención integral a los pacientes con defectos congénitos de la respuesta inmune. Nuestras investigaciones se centran tanto en los aspectos clínicos como en los moleculares de las inmunodeficiencias primarias.

Buscamos pacientes con una sospecha o diagnóstico confirmado de síndrome de infección recurrente anormal de origen inmunológico. Si usted tiene conocimiento de algún caso clínico relacionado con estas entidades, por favor, comuníquese con nuestro grupo en Medellín en los teléfonos 510 6078, 510 6047 o 510 6057.

Para mayor información visite la página en internet:
<http://www.boletin-lagid.lsumc.edu/Contenido.htm>

Funcionarios responsables:

Pablo Javier Patiño, M.D., Ph.D., ppatino@carios.udea.edu.co

José Luis Franco, M.D., M.Sc., jlfancor@epm.net.co

Carlos Julio Montoya, M.D., M.Sc., cjmonto@carios.udea.edu.co