

# Bioquímia

Volumen 29  
Volume 29

Número 1  
Number 1

Enero-Marzo 2004  
January-March 2004

*Artículo:*

Fagocitosis: mecanismos y consecuencias  
Segunda parte

Derechos reservados, Copyright © 2004:  
Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, AC

Otras secciones de  
este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

*Others sections in  
this web site:*

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



**Edigraphic.com**

# Fagocitosis: mecanismos y consecuencias Segunda parte

Oscar Rojas-Espinosa,\* Patricia Arce-Paredes\*\*

## RESUMEN

Ellie Metchnikoff, en 1880, descubrió que la función de las células fagocíticas era esencial para la supervivencia de todas las especies del reino animal. En los organismos unicelulares como los protozoarios, la función fagocítica es el único medio por el cual estos organismos adquieren su alimento. La función fagocítica de estas células se mejora a lo largo de la evolución y se mantiene en los animales más evolucionados, aunque aquí la función de los fagocitos deja de ser preponderantemente nutricional para constituirse en un eficiente mecanismo de protección no específico contra agentes infecciosos y de eliminación de células muertas o seniles. Cada etapa del proceso fagocítico (la migración, el reconocimiento de lo que puede y debe ingerirse, la endocitosis y la destrucción de partículas) se describe cada vez más complicada; día a día se identifican más componentes moleculares y se establecen más interacciones y rutas metabólicas. Aunque el proceso de la fagocitosis no está esclarecido en su totalidad, ahora tenemos una mejor idea de cómo se reconocen las partículas que deben eliminarse y de los mecanismos subsecuentes que llevan a su destrucción. En este artículo, se hace una revisión concisa del proceso de la fagocitosis y se enfatiza su importancia como mecanismo de protección en los vertebrados, señalando, aunque de manera somera, aquellos aspectos que en la actualidad son objeto de mayor estudio, incluyendo estructura celular, la existencia y función de las proteínas de adhesión, los receptores para endocitosis, las proteínas G, las cascadas de señalización, la maduración de los fagosomas, y la generación de los metabolitos tóxicos del oxígeno y el nitrógeno.

**Palabras clave:** Fagocitosis, células fagocíticas, bioquímica, neutrófilos, macrófagos.

## ABSTRACT

In 1880 Ellie Metchnikoff established the phagocytic cells' function as an essential process for the survival of animal species. In the unicellular organisms, such as the protozoa, the phagocytic function is the only means through which these organisms acquire their next meal. The phagocytic function improves through evolution and remains so in the more evolved species, although here the primary function of phagocytes is no longer a nourishment-related activity but it turns into an efficient mechanism of protection against infectious agents and of elimination of senescent or abnormal cells. Every step of the phagocytic process (migration, adhesion, endocytosis and particle destruction) appears each time more complex, and new molecules and mechanisms are continuously discovered. Although the whole phagocytic process is not yet fully understood, now we have a better panorama on the way phagocytic cells recognize those particles that must be eliminated and the mechanisms following thereafter. In this article a concise review is made on the phagocytic process and its importance as a protection mechanism of vertebrates, pointing out those aspects receiving major attention at the present, including cell-structure, adhesion proteins, phagocytosis-endowed receptor molecules, signalling pathways and participant molecules, maturation of phagosomes, and the role of the nitrogen and oxygen-derived intermediaries as potent antimicrobial toxins.

**Key words:** Phagocytosis, phagocytic cells, biochemistry, neutrophils, macrophages.

\* Doctor en Ciencias, Departamento de Inmunología

\*\* Ingeniero Bioquímico, Departamento de Ingeniería Bioquímica  
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional.

Correspondencia:

Dr. Oscar Rojas-Espinosa

Departamento de Inmunología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional.  
Carpio y Plan de Ayala, Colonia Santo Tomás, 11340 México, D.F., México.  
e-mail: rojas\_espinosa@hotmail.com

Financiamiento: Coordinación General de Estudios de Posgrado e Investigación (CGPI) del IPN. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)

Recibido: 09-10-2003

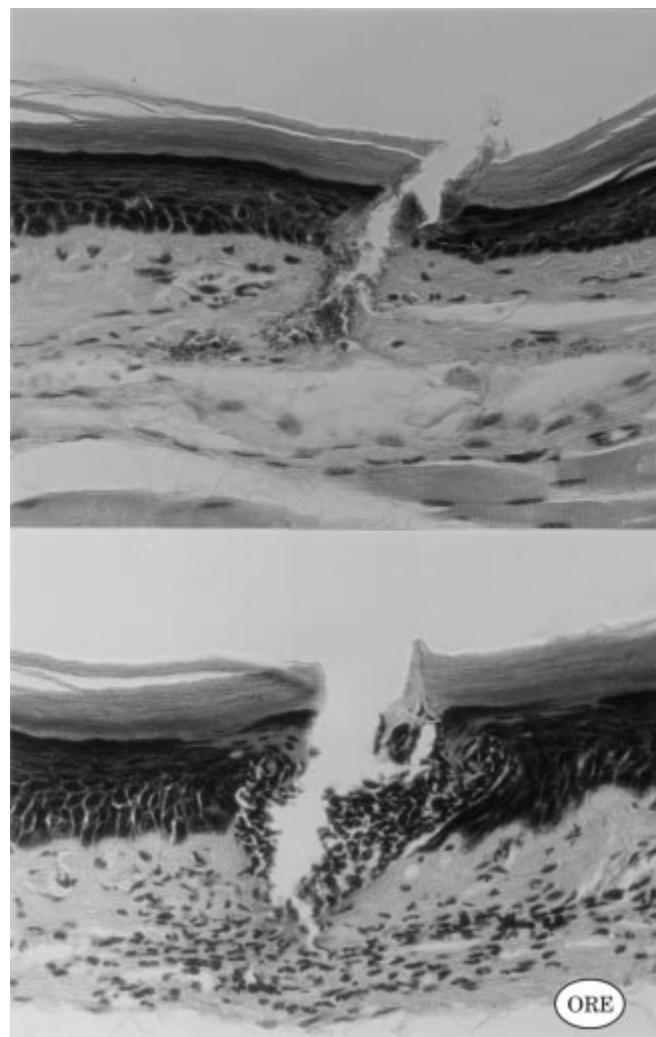
Aceptado: 03-12-2003

## LA QUIMIOTAXIS

Ya mencionamos que la reacción inflamatoria en un sitio de lesión tisular, promueve la acumulación de células fagocíticas en ese sitio. En lesiones de tipo agudo, las células predominantes son los leucocitos PMN; en lesiones crónicas, sobre todo en aquéllas en donde operan los mecanismos de la inmunidad celular, las células predominantes son los fagocitos mononucleares (monocitos/macrófagos: MN/Mfs). La ocurrencia de traumas en las superficies protectoras del cuerpo (mucosas o queratinizadas), por muy pequeñas que sean, permiten la entrada de microorganismos. En un medio ambiente tan rico en componentes nutritivos, los microorganismos empiezan a proliferar y al hacerlo generan y liberan productos de su metabolismo que en cantidades pequeñísimas, del orden de nanogramos o aun de femtogramos ( $1 \times 10^{-12} - 1 \times 10^{-15}$  g), se difunden en los tejidos circundantes y son capaces de modificar la fisiología de las células fagocíticas al interaccionar con receptores específicos sobre ellas induciendo su migración hacia el sitio de lesión (Figura 7). Dentro de ciertos límites, este fenómeno de migración o quimiotaxis, es más marcado mientras mayor es el grado de lesión y mientras mayor es la concentración de los factores quimiotácticos liberados al microambiente tisular (las altas concentraciones de factores quimiotácticos generalmente son tóxicas para las células). El estudio de diversos productos microbianos naturales con actividad quimiotáctica, condujo al descubrimiento y a la posterior síntesis comercial del tripéptido fMLF, un agente con alta actividad quimiotáctica. La desnaturalización de componentes tisulares propios por efecto del trauma o la infección, también puede generar la formación de factores con actividad quimiotáctica.

Otros factores con actividad quimiotáctica (estudiados usando la cámara de Boyden en alguna de sus múltiples versiones) son los intermediarios o productos que resultan de la activación del complemento (C5a, los fragmentos de C3 hidrolizados por proteasas y plasmina, y el complejo C5b, 6, 7), los factores quimiotácticos para neutrófilos y monocitos (quimiocinas) producidos por los linfocitos T activados, y otras moléculas.

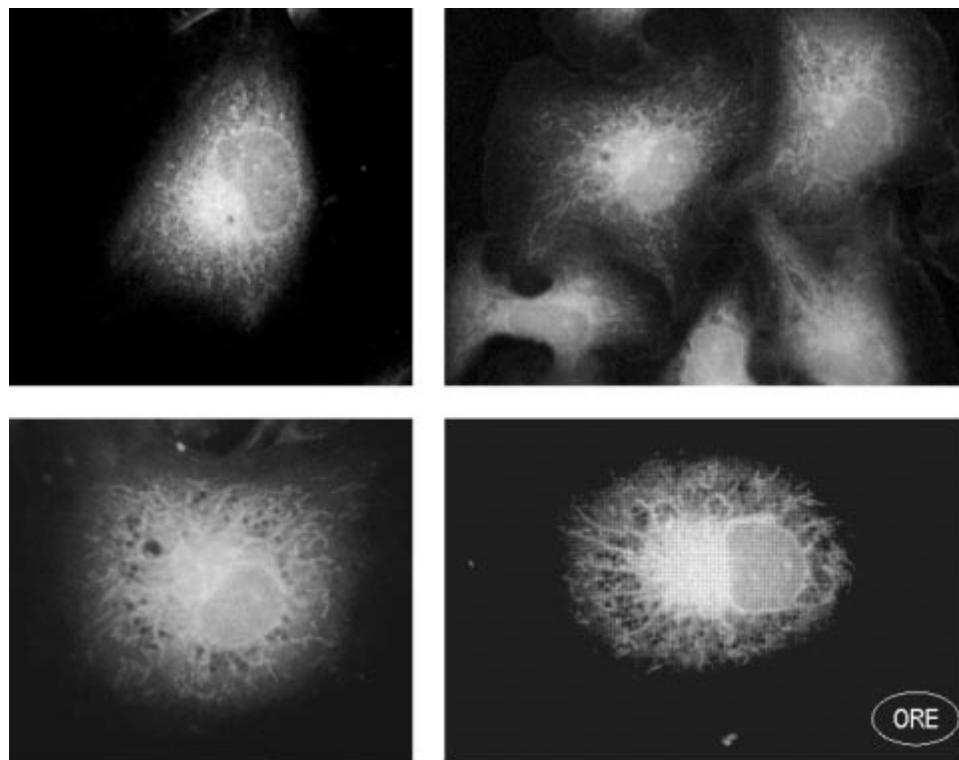
La interacción entre los factores quimiotácticos y sus receptores sobre las células fagocíticas no sólo inicia la migración dirigida de las células, también induce la liberación de enzimas y de metabolitos del oxígeno (ver cambios bioquímicos), sin embar-



**Figura 7.** La reacción inflamatoria temprana promovida por infección se caracteriza por la acumulación de leucocitos polimorfonucleares que son atraídos al sitio de infección por factores quimiotácticos derivados de los microorganismos. La figura en el panel superior muestra la histología de la piel, 10 minutos después de la inoculación “en punto” con *S. aureus*. La presencia de un pequeño coágulo de sangre en el sitio lesionado es la única evidencia de la reacción inflamatoria. Cuatro horas después de la infección (panel inferior) la acumulación de leucocitos PMN es extensa tanto en la lesión como en la dermis subyacente.

go, las concentraciones de los factores que inician las funciones de migración y de secreción de las células son muy diferentes; la quimiotaxis ocurre a bajas concentraciones de los quimioatractantes (ng-fg), la secreción sucede a concentraciones 10 a 50 veces mayores.

La quimiotaxis requiere de energía (ATP) y de la presencia de calcio y magnesio, lo cual indica que se



**Figura 8.** Citoesqueleto en macrófagos del peritoneo de ratón. Preparaciones teñidas con un anticuerpo anti-tubulina marcado con fluoresceína (100X).

**Cuadro V. Proteínas componentes del citoesqueleto<sup>a</sup>.**

Estructura	Proteína	Prot. asociadas
Microtúbulos	Tubulinas $\alpha$ y $\beta$ ( $\gamma$ en centrómero)	MAPs Quinesinas Dineñas
Microfilamentos	Actina	Miosinas Timosina $\beta 4$ Profilina CapZ Gelsolina ADF, cofilina, actoforina y depactina
Filamentos intermedios	Vimetina y vimentin-like filaments	Plectina

\*Además de las señaladas, otras proteínas como tropomiosina, calmodulina, cadherina, MARKS y varias GTPasas, proteincinasas y fosfatases, participan en la regulación de la actividad del citoesqueleto.

<sup>a</sup>Basado en las referencias 36-41

trata de un proceso metabólicamente activo. Como todas las funciones celulares que implican movilidad, la quimiotaxis depende de la existencia y función de las estructuras contráctiles de las células que constituyen el citoesqueleto.

### El citoesqueleto

Aunque se conocen muchas proteínas asociadas al citoesqueleto, las estructuras constitutivas del mismo más conspicuas son los microtúbulos, los

microfilamentos y los filamentos intermedios (*Figura 8 y Cuadro V*). Los agentes que destruyen los microtúbulos (colchicina, vinblastina, vincristina) inhiben la quimiotaxis a concentraciones relativamente elevadas ( $10^{-4}$  a  $10^{-5}$  M). La citocalasina B, la cual deprime la función de los microfilamentos, inhibe reversiblemente la quimiotaxis y la movilidad celular a concentraciones mayores de 1.0  $\mu\text{g}$  por mL. Estos agentes, a concentraciones bajas pueden tener el efecto contrario, incrementando la movilidad y la quimiotaxis. Recientemente, Vicente-Manzanares y cols<sup>36</sup> publicaron una extensa revisión sobre citoesqueleto, sus componentes y funciones, cuya lectura recomendamos ampliamente.

#### *Microtúbulos*

Los microtúbulos son estructuras relativamente grandes, rígidas y cilíndricas construidas a base de 2 monómeros de  $\alpha$ - y  $\beta$ -tubulina. Cada microtúbulo está compuesto por 13 filamentos ordenados en forma paralela y acomodados como un tubo de longitud variable cuya luz mide unos 150 Å de diámetro. Los microtúbulos forman una red compleja en todas las células nucleadas. También existen en cilios, flagelos, y en la cola de los espermatozoides (y participan en el movimiento activo de estas estructuras), así como en los husos mitóticos donde son responsables del movimiento de los cromosomas durante la mitosis.<sup>37</sup>

Los microtúbulos citoplásmicos generalmente se encuentran en un estado de rápido ensamblaje y desensamblaje, un proceso que depende de la presencia de  $\text{Ca}^{++}$  y de cAMP. El ensamblaje de los microtúbulos es inhibido por alcaloides, los cuales se fijan con gran afinidad a la tubulina. Varias proteínas asociadas participan en la función de los microtúbulos, entre ellas las proteínas MAPs (*Microtubule Associated Proteins*) que promueven su polimerización, y proteínas de las familias de las quinesinas y dineínas, que utilizando ATP como fuente de energía funcionan como motores que impulsan el movimiento de vesículas y organelos sobre y a lo largo de los microtúbulos.<sup>36</sup> Los microtúbulos también participan en el movimiento y distribución de proteínas de la membrana celular ya que el tratamiento de las células con alcaloides o con agentes que alteran los microtúbulos, altera también la distribución de las proteínas de membrana inducida por lectinas o por anticuerpos. La asociación de las proteínas membranales con el

sistema de los microtúbulos puede ocurrir de manera directa o a través de los microfilamentos o de los filamentos intermedios.

#### *Microfilamentos*

Los microfilamentos son estructuras construidas a base de subunidades idénticas o muy similares a la actina del músculo esquelético.<sup>38</sup> La actina se encuentra organizada en la forma de largos cables de 50 Å de diámetro, compuestos por unidades de monómeros de actina (actina G). Los monómeros de actina tienden a polimerizar para formar actina F y la polimerización está regulada por diversas proteínas, como la timosina  $\beta 4$  que “secuestra” a los monómeros de actina, la profilina que evita la polimerización espontánea y la proteína CapZ que estabiliza los polímeros ya formados evitando que se incorporen o se remuevan más monómeros de actina. Otras proteínas reguladoras de la polimerización de la actina incluyen a la gelsolina, y las proteínas ADF, cofilina, actoforina, depactina y otras, que promueven el desensamblaje de la actina. En las células, los microfilamentos están asociados con la miosina citoplásmica<sup>39</sup> y con la tropomiosina.<sup>40</sup> Los microfilamentos existen en 2 formas distintas: una red laxa de fibras cortas asociada a las estructuras de la superficie interna de la membrana plasmática (sensibles a citocalasina B) y manojos de fibras que corren por debajo de la membrana, adyacentes a ella. Ambos tipos de microfilamentos son contráctiles y juegan un papel importante en todo tipo de movimiento celular, incluyendo cambios de forma, movimiento al azar y dirigido, endocitosis, secreción de productos, etc.

#### *Filamentos intermedios*

Los filamentos intermedios reciben este nombre por su diámetro que es intermedio entre el de los microfilamentos y el de los microtúbulos. Se forman por la polimerización tetramérica de largos filamentos compuestos por uno de tres tipos de proteínas: las queratinas (en epitelios), las vimentinas (en leucocitos y fibroblastos, desmina en células musculares) y los neurofilamentos (en células del sistema nervioso). Los filamentos intermedios confieren resistencia estructural y alta plasticidad a la célula que le permiten soportar altas tensiones externas como las que ocurren cuando las células pasan a través de uniones intercelulares durante la diapédesis.<sup>41</sup>

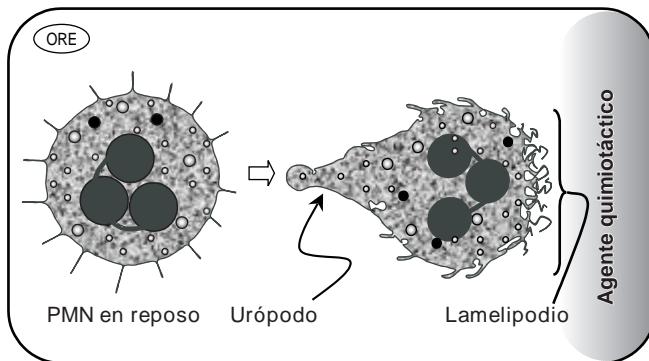
### Otras proteínas asociadas al citoesqueleto

A parte de la miosina y la tropomiosina citoplásmicas, otras proteínas mayores como MARKS, *gelsolina* y *profilina*, interaccionan con la actina modulando su actividad. El contacto de neutrófilos con quimioattractantes promueve, en pocos segundos, ciclos de polimerización y despolimerización de la actina. La polimerización de la actina G para formar la actina F, proporciona a la célula la arquitectura reticular dinámica necesaria para soportar todas las funciones celulares. Las señales que se originan al interaccionar un ligando quimiotáctico con su receptor membranal se conectan con el citoesqueleto a través de la actina F. El ordenamiento lineal de la actina F requiere de la participación de las otras proteínas citoplásicas accesorias. La gelsolina y la profilina, por ejemplo, se encuentran asociadas de manera no covalente con la actina monomérica en las células en reposo. La estimulación quimiotáctica de las células provoca que estas proteínas se disocian y entonces ocurre la polimerización de la actina. Después, cuando el estímulo quimiotáctico ha cesado, la gelsolina y la profilina se reasocian con la actina promoviendo su despolimerización. Las altas concentraciones de calcio inhiben la asociación de la profilina con la actina mientras que las bajas concentraciones la promueven. La función de estas proteínas modula la actividad del citoesqueleto y permite su interacción con lípidos y proteínas de la cara interna (citoplásica) de la membrana.<sup>42,43</sup>

Las proteínas que forman parte del citoesqueleto de las células fagocíticas se enlistan en el cuadro V.

### Aspectos bioquímicos de la quimiotaxis

El uso de quimioattractantes sintéticos (como el fMLF) radiactivos, ha permitido saber que el movimiento celular se inicia inmediatamente después del contacto del quimioattractante con receptores específicos presentes en la membrana. El diisopropil-fluorofosfato (DFP) y los p-nitrofenil-etil-fosfonatos (inhibidores de esterasas con serina en su sitio activo), deprimen la respuesta quimiotáctica de los leucocitos PMN sólo cuando éstos están en presencia del quimioattractante pero no cuando los PMN, o el quimioattractante son tratados separadamente, o preincubados con los inhibidores. Esto sugiere que en la respuesta quimiotáctica participa, entre otras proteínas, una serina-esterasa, la cual existe como zimógeno, insensible a fosfonatos, en las células en reposo. Uno de



**Figura 9.** La quimiotaxis de las células fagocíticas es un fenómeno dinámico altamente complejo. Se inicia en la membrana con señales químicas que se transducen al citoplasma promoviendo la función del citoesqueleto (ver texto). En presencia del agente quimiotáctico, las células se orientan y se desplazan dejando ver un extremo caudal globular llamado urópodo y un extremo frontal aplanado llamado lamelipodio.

los primeros estudios realizados con PMN de conejo, permitió calcular que existen unas 500 moléculas de proesterasa por célula. Los PMN se trataron primero con DFP “frío” para inactivar las serina-esterasas presentes en estado activo, después las células se lavaron exhaustivamente, se activaron con C5a en presencia de DFP radiactivo, y luego se midió la cantidad de DFP consumido. La afinidad de los receptores celulares por el quimioattractante fMLF está alostéricamente regulada por la actividad de proteínas G;<sup>44</sup> la unidad efectora del complejo terciario (segundo mensajero) podría ser una fosfolipasa, una protein-cinasa, una metil transferasa, o alguna otra. En las membranas de los PMN humanos el receptor para fMLF existe en 2 estados de afinidad que son interconvertibles. Las dosis bajas del quimioattractante y los receptores de alta afinidad favorecen la transmisión de señales quimiotácticas; las dosis altas y los receptores de baja afinidad inician la producción y secreción del anión superóxido.

Las células en movimiento y la dirección del mismo, se pueden distinguir con relativa facilidad. Las células que se desplazan sobre una superficie en respuesta a un estímulo quimiotáctico muestran un frente aplanado (lamelipodio) y un extremo caudal globular (urópodo); las células en reposo, muestran su característica forma redonda (*Figura 9*).

### OPSONIZACIÓN

La opsonización es un fenómeno que mejora el proceso de la endocitosis y que requiere de la interacción de las partículas ingeribles con factores del suero de

**Cuadro VI. Factores del suero con actividad de opsonina<sup>a</sup>.**

IgG1, IgG2, IgG3
IgM en presencia de Ca <sup>++</sup> (sólo en el ratón)
C3b y C3bi
Globulinas alfa-1, alfa-2, beta-1
Proteína C-reactiva
Fibronectina (?)
Colectinas (proteína enlazadora de manosa, MBP)
Proteína surfactante A, SP-A (en líquido pleural)

<sup>a</sup>Basado en las referencias 45, 50, 56

diversa naturaleza denominados *opsoninas*. Las opsoninas incluyen anticuerpos (fundamentalmente IgG), componentes del complemento, y algunas otras proteínas presentes en el suero, en el moco y en el fluido pleural<sup>45</sup> (*Cuadro VI*). El papel de las opsoninas como promotoras de fagocitosis está relacionado con la presencia de receptores para ellas en la membrana de las células fagocíticas.

En el caso de los anticuerpos, por ejemplo, éstos funcionan como opsoninas una vez que han interactuado con determinantes antigenicos homólogos presentes en las partículas ingeribles. Los leucocitos PMN y los MN de la mayoría de las especies, tienen receptores específicos para la región Fc de las inmunoglobulinas IgG1, IgG3, IgG2 e IgG4, en ese orden de abundancia; lógicamente, el tratamiento con pepsina del anticuerpo destruye su actividad opsonizante. Aparte de los anticuerpos IgG, ninguna otra clase de inmunoglobulina muestra actividad opsonizante, aunque se ha descrito en el ratón una población de anticuerpos IgM monoméricos que funcionan como opsoninas en presencia de Ca<sup>2+</sup>.

En 1977, Kaplan<sup>46</sup> observó que los macrófagos de ratón endocitaban eritrocitos de carnero (GRc) de manera diferente según éstos estuvieran opsonizados con IgG o con C3b. Encontró que los receptores para Fc y para C3b se encontraban distribuidos homogéneamente en la superficie celular. Los GRc-IgG se ingirieron por medio de finas extensiones de la membrana celular las cuales fijaron firmemente a las partículas en estructuras en forma de copa; sólo después las partículas fueron realmente endocitadas. Los GRc-C3b, en cambio, parecieron hundirse directamente en el citoplasma celular, sin la participación de extensiones membranales. Estos patrones de endocitosis, sin embargo, no son absolutos: Johnson y Eskeleland,<sup>47</sup> por ejemplo, también observaron la endocitosis de partículas de agarosa recubiertas con C3b o con C3bi, a través de estructuras membranales en forma de copa.

## Regulación de la actividad de los receptores para opsoninas

Johnson y cols.<sup>48</sup> observaron que el cultivo de macrófagos sobre superficies recubiertas con fibronectina, incrementaba la capacidad de estas células para endocitar partículas de agarosa opsonizadas con C3b y con C3bi, y encontraron que la fibronectina se enlazaba a las esferas de agarosa cuando éstas se encontraban recubiertas con C3b, C3bi o C3d, pero no cuando se encontraban recubiertas con suero descomplementado. Sugirieron que el dominio C3d portaba el principal sitio de unión de la fibronectina y que ésta era una opsonina. Sin embargo, ya antes se había demostrado que la fibronectina promovía el enlazamiento pero no necesariamente la ingestión de partículas por los fagocitos;<sup>49</sup> esto puso en duda el papel de la fibronectina como una auténtica opsonina. No obstante, aunque la fibronectina no actuase exactamente como una opsonina, sus fragmentos de hidrólisis liberados por proteasas de neutrófilos son quimiotácticos para monocitos, promueven la activación de receptores para C3 y Fc, e incrementan la actividad bactericida de los monocitos.<sup>50</sup>

Por su parte, Wright y Silverstein<sup>51</sup> encontraron que los receptores para Fc son constitutivamente promotores de endocitosis, mientras que los receptores para C3 (C3b, C3bi y C3d) no lo son. Los MN humanos normales y los Mfs peritoneales de ratón, adhieren partículas opsonizadas con C3 pero no las ingieren con la avidez que lo hacen los MN "inflamatorios" y los Mfs peritoneales de ratón activados con el éster forbólico del ácido mirístico (PMA) o sus análogos.<sup>52</sup> Wright y cols.<sup>53</sup> proponen que *in vivo*, la actividad de los receptores para C3 (y derivados) podría estar regulada por proteínas plasmáticas del tipo de la fibronectina. *In vitro*, los receptores para C3 podrían activarse cuando los fagocitos (MN) se adhieren a superficies cubiertas por fibronectina o cuando las partículas opsonizadas con C3 han previamente interactuado con fibronectina en solución. El hecho de que la fibronectina también se adhiera a bacterias, a fibrina y a colágena desnaturalizada, sugiere algún papel de la fibronectina en la promoción de la endocitosis, quizás por reorientación de los receptores para C3 (CR1 y CR3) o por incrementar su expresión membranal.

Otro mecanismo de regulación de la actividad de los receptores para C3, se infiere del trabajo de Griffin y Griffin<sup>54</sup> quienes encontraron que los LcT activados, elaboran factores solubles que interaccionan con receptores específicos sobre la membrana de los MN incrementando su capacidad para endocitar par-

tículas opsonizadas con complemento. Estos factores solubles probablemente correspondan a las quimiocinas MIP (*Macrophage Inflammatory Protein*), MAP (*Monocyte Chemotactic Protein*) e IL-18, o a otras citocinas activadoras de macrófagos.

## ENDOCITOSIS

La endocitosis, el mecanismo por el cual las partículas penetran a las células; usualmente ocurre a través de receptores localizados en regiones de la membrana revestidas por clatrina. El proceso comprende la invaginación de la membrana plasmática alrededor del material extracelular, formando una vacuola fagocítica. En la mayoría de los casos, la vacuola se fusiona, reversiblemente, con los lisosomas para dar origen a la vacuola digestiva o fagosoma. Esta fusión permite el contacto de la partícula fagocitada con las hidrolasas lisosomales del fagocito. Como resultado de esta actividad, continuamente se remueven porciones de la membrana plasmática para formar la envoltura de la vesícula endocítica. En cuanto al destino de este material membranal, inicialmente se supuso que la membrana celular incorporada en los fagosomes era rápidamente destruida por las enzimas lisosomales, sin embargo, la velocidad de incorporación de membrana durante la endocitosis era muy alta en comparación con la velocidad de su degradación. También se sugirió que el material membranal simplemente se incorporaba y se retenía en la membrana del fagolisosoma pero esta proposición no se sostuvo cuando se demostró que las membranas lisosomal y plasmática diferían grandemente en su composición química, enzimática y antigénica. Además, ya que toda la membrana plasmática está comprometida con la formación de vesículas fagocíticas, gran parte de la membrana debería perderse de la superficie celular al mismo tiempo que los lisosomas deberían aumentar su tamaño en proporción a la cantidad de membrana interiorizada. Como esto no sucede, Tulkens y cols.<sup>55</sup> propusieron una hipótesis que ha prevalecido hasta la fecha. Según esta hipótesis, durante el proceso de fusión fago-lisosomal, los componentes transportados por las vesículas podrían: (a) mantenerse ligados a los componentes de la membrana celular, (b) permanecer en solución, o (c) ligarse a la fracción de membrana lisosomal, según las afinidades particulares entre ligandos y membranas. Enseguida, cuando las dos vesículas (fagosoma y lisosoma) se separasen, los componentes endocitados o sus productos de hidrólisis podrían ser reciclados al exterior junto con la membrana celular, o podrían ser retenidos en los lisosomas para

ser procesados y posteriormente integrados al cito-plasma. De esta manera, aquellos ligandos que tuvieran gran afinidad por componentes de la membrana celular, serían retenidos firmemente por la membrana y reciclados junto con ella a la superficie celular. Los ligandos sin una afinidad particular por la membrana externa, podrían ser retenidos en los lisosomas, como ya se comentó antes. Aunque Tulkens acepta que esto es quizás una sobre-simplificación del fenómeno, la hipótesis es aplicable a la endocitosis de moléculas solubles y de partículas, una vez que éstas han sido digeridas en la vacuola fagolisosomal.

## Receptores mediadores de endocitosis

La ingestión de microorganismos por las células fagocíticas ocurre a través de dos tipos de receptores: los receptores para constituyentes propios de los microorganismos (*Pattern-Recognition Receptors*), y los receptores para opsoninas.<sup>56</sup> Los primeros incluyen a los receptores para manosa (MR), los receptores para mananas e integrinas (DEC-205), y los receptores para lipopolisacáridos (ScR, *Scavenger Receptors*), además de otros, mientras que los segundos, incluyen a los receptores para la proteína fijadora de manosa (MBPR, *Mannose-Binding protein Receptor*), la cual también es reconocida por el receptor para C1q, los receptores para la proteína surfactante A (SPR2), los receptores para inmunoglobulinas IgG (FcγR), y los receptores para complemento C3b (CR1) y C3bi (CR3) (*Cuadro VII*).

## TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES

La mayor parte del conocimiento sobre las vías de señalización que conducen a la fagocitosis proviene

**Cuadro VII. Receptores relacionados con fagocitosis<sup>a</sup>.**

Receptor	Ligando
MR	Carbohidratos con manosa
DEC 205	Mananas e integrinas
ScR (CD14)	CD11b/CD18
MBPR	Lipopolisacáridos (LPS)
SPR 210	Proteína enlazadora de manosa (MBP)
FcRI	Proteína surfactante A
FcRII	IgG2a
FcRIII	IgG1 e IgG2b
CR1 (CD35)	IgG3
CR3	C3b, C3bi

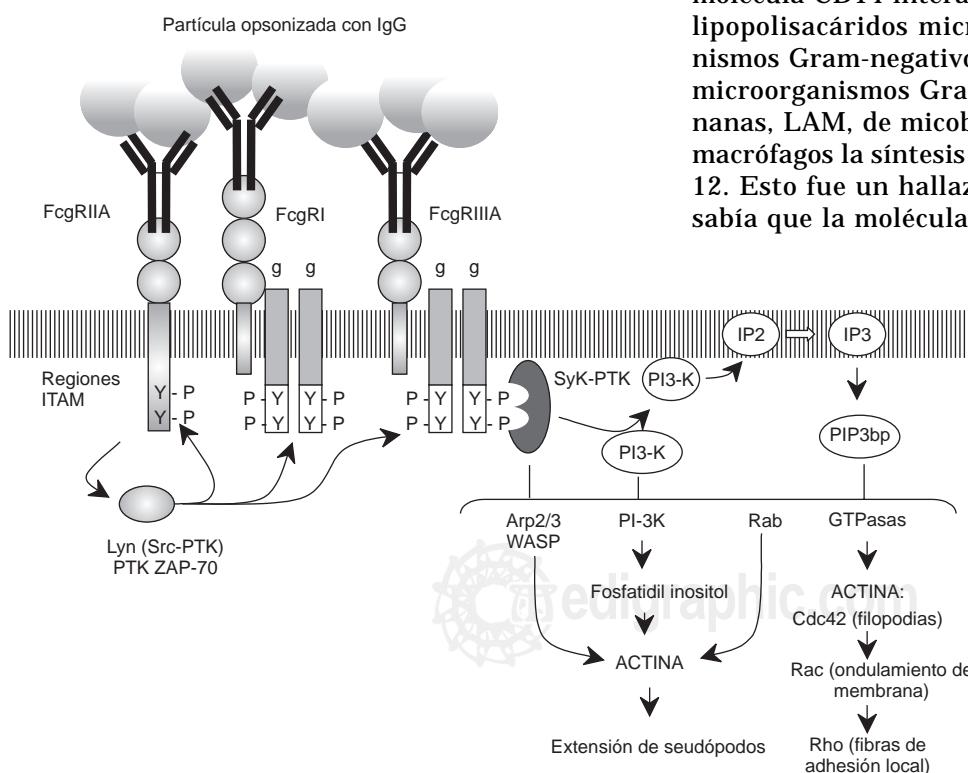
<sup>a</sup>Basado en las referencias 1, 56, 63

del estudio de los receptores para inmunoglobulinas (Fc $\gamma$ R).<sup>57-59</sup> Estos receptores, en los fagocitos humanos, incluyen a Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII y Fc $\gamma$ RIII. Fc $\gamma$ RII es una sola cadena polipeptídica con un dominio extracelular, un dominio transmembranal, y un dominio intracitoplásmico con dos regiones ITAM (*immunoglobulin gene family tyrosine activation motif*).<sup>57,60</sup> Los receptores Fc $\gamma$ RI y Fc $\gamma$ RIII carecen de ITAMs en sus dominios citoplásicos pero se encuentran asociados a proteínas adaptadoras (dímeros de cadenas gamma) que tienen las regiones ITAM requeridas para la transducción de señales. El entrecruzamiento de los receptores Fc $\gamma$ RI y Fc $\gamma$ RIII por sus ligandos correspondientes, promueve la fosforilación de tirosinas en los dominios ITAM de las subunidades gamma.<sup>57</sup> La protein-tirosin-cinasa inicial (PTK) responsable de esta fosforilación es Lyn, un miembro de la familia Src. Las tirosinas fosforiladas en los dominios ITAM funcionan como sitios de unión de alta afinidad para los dominios SH2 de las protein-tirosin-cinasas Src y Syk. Syk fosforila a la proteína p85bp y ésta se torna un sitio de captura para la protein-inosin 3 cinasa, PI3-K.<sup>61</sup> PI3-P cataliza la formación de fosfoinositidos fosforilados como PIP3 el cual se enlaza a una proteína enlazadora de PIP3 (PIP3bp). Ésta y otras proteínas, a través de las

GTPasas Rac o Ras, promueven la polimerización de la actina. Así, la activación de Syk inicia una serie de cascadas de señalización que son causa de activación transcripcional, rearreglos en el citoesqueleto, y liberación de mediadores inflamatorios.<sup>62-66</sup> El entrecruzamiento de los receptores Ig $\gamma$ R por sus ligandos, resulta, finalmente, en la polimerización de la actina y la fagocitosis, y aunque no se conocen todos los pasos de estos procesos, se sabe que participan varias proteínas, entre ellas la proteincinasa PI-3 (PI-3K), GTPasas de las familias Rho (Cdc42 y Rac) y ARF, proteincinasa C (PKC), y otras como WASP, Arp2/3, y Rab.<sup>66,67</sup> En algunos casos se ha podido discernir que varias proteínas actúan de manera jerárquica, como ocurre con las GTPasas de la familia Rho, donde Cdc42 participa en la formación de filopodias y en la activación de Rac, Rac estimula el ondulamiento de la membrana y activa a Rho, y Rho estimula la formación de fibras de adhesión local.<sup>68</sup> Estos eventos se ilustran en la figura 10.

#### *Los receptores TLR (Toll like-receptors)*

El descubrimiento de los receptores parecidos a las moléculas *toll* de *Drosophila*, TLR (*Toll like-receptors*) en los macrófagos, derivó del estudio de la molécula CD14 presente en estas células. Se vio que la molécula CD14 interaccionaba con ciertos lípidos y lipopolisacáridos microbianos (LPS de microorganismos Gram-negativos; ácido lipoteicoico, LTA, de microorganismos Gram-positivos y lipoarabinomananas, LAM, de micobacterias), estimulando en los macrófagos la síntesis y secreción de IL-1, IL-6 e IL-12. Esto fue un hallazgo desconcertante porque se sabía que la molécula CD14 carecía de un dominio



**Figura 10.** El entrecruzamiento de los receptores Fc $\gamma$ R por sus ligandos, origina una serie de señales en la que participan proteincinasas, GTPasas, ATPasas, proteínas adaptadoras y otras proteínas asociadas, que culminan con la polimerización de la actina, la fagocitosis y el movimiento celular en general (esquema basado en las referencias 57, 58, 61-64, ver detalles en el texto).

intracitoplásmico prominente y que por lo tanto no era una molécula transductora de señales.<sup>69</sup> La incógnita se despejó cuando se encontró que las células de mamífero también contenían proteínas estructuralmente relacionadas con las proteínas *Toll* de *Drosophila*, también encargadas de neutralizar microorganismos, razón por la cual estas proteínas se llamaron TLR (*Toll-Like Receptors*). En mamíferos se han identificado cuando menos diez proteínas TLR (TLR1 a TLR10) (*Cuadro VIII*), todas con un dominio intracitoplásmico y una región homóloga al receptor para IL-1, y por lo tanto, capaces de transducir señales. Ahora se sabe que el LPS se enlaza directamente a TLR4 en una reacción facilitada por la molécula CD14. Aunque hay vías particulares de señalización y activación celular según el TLR involucrado, una secuencia representativa de eventos podría ser la siguiente:<sup>70</sup> la interacción del TLR con su ligando promueve el reclutamiento de la proteína adaptadora MyD88 con el receptor. El complejo formado, recluta a su vez a alguna(s) de las cinasas asociadas al receptor para interleucina-1 (IRAK1/IRAK4). Durante la formación de este complejo, IRAK4 se activa ocasionando la hiperfosforilación de IRAK1, lo cual promueve la asociación de TRAF6 (*TNF-Receptor Associated Factor 6*) con el complejo. La asociación entre IRAK4/IRAK1/TRAF6 causa cambios conformaciona-

les en uno o más de estos factores, ocasionando su separación del complejo IRAK1/TRAF6 del receptor y su traslocación a la membrana donde interacciona con otro complejo preformado compuesto por TAK1 (*TGF- $\beta$  activated kinase*), TAB1 (*TAK1-binding protein-1*) y TAB2. Esta interacción induce la fosforilación de TAB2 y TAK1, los cuales entonces se traslocan al citosol junto con TRAF6 y TAB1. TAK1 es subsequentemente activado en el citoplasma para activar a su vez al inhibidor de  $\kappa$ B ( $I\kappa B$ ). El  $I\kappa B$  inactivo se cuestra al NF- $\kappa$ B en el citoplasma pero su activación induce su fosforilación y degradación con la consecuente liberación de NF- $\kappa$ B. El NF- $\kappa$ B liberado pasa al núcleo donde se asocia a promotores de genes codificantes de citocinas (*Figura 11*).

La importancia de los TLRs en la inmunidad innata se deduce de situaciones como la observada en los ratones C3H/HeJ, donde una mutación homocigótica en *tlr-4* está relacionada con defectos de señalización y con alta susceptibilidad a infecciones por microorganismos Gram-negativos.

### Rafts y caveolas

Además de la entrada de microorganismos a las células fagocíticas a través de receptores para opsoninas y de receptores de reconocimiento de patrón, algunos de ellos al menos, también pueden penetrar a los fagocitos a través de *rafts* y de *caveolas*<sup>71</sup> (*Figura 12*).

Los rafts son microdominios lipídicos presentes en las membranas plasmática y endosomal de todas las células eucarióticas. Estas regiones se encuentran enriquecidas en colesterol, glucoesfingolípidos y glucolípidos con fosfatidil inositol a través de los cuales se enlazan a las membranas celulares.

Las caveolas por su parte, son una variedad de rafts, localizadas en la membrana plasmática que adoptan una forma de botella y que además de los lípidos antes mencionados tienen unida al colesterol una o más proteínas de la familia de las *caveolinas* (caveolinas 1, 2 y 3) que se encuentran recubriendo la superficie citoplásmica de la caveola. Las caveolinas transportan colesterol del reticuloendoplasma donde se produce, a la caveola y regulan la actividad de las proteínas de señalización (tirosin cinasas) que se encuentran en la caveola. Una revisión muy comprensible sobre caveolas, caveolinas y su función fue publicada recientemente por Schlegel y Lisanti.<sup>72</sup>

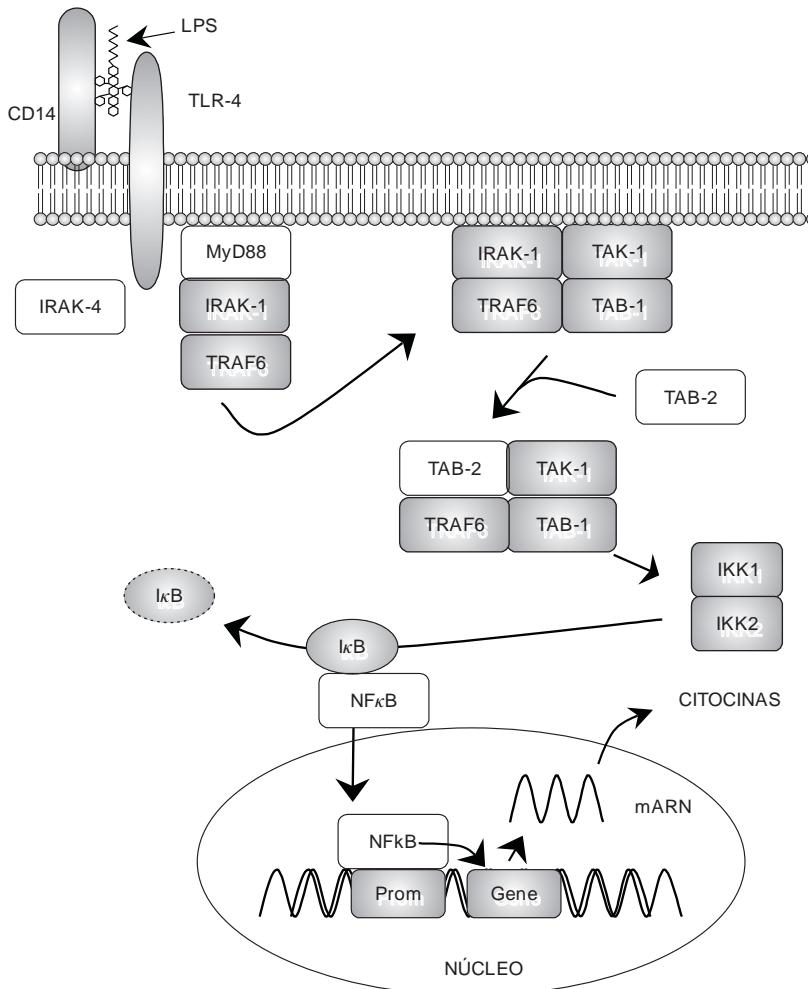
Algunos de los microorganismos que penetran a las células a través de rafts y caveolas son bacterias (*Escherichia coli*, *Mycobacterium bovis* BCG, *Campylobacter jejuni*), virus (SV40, sarampión, influenza) y

**Cuadro VIII. Receptores TLR en mamíferos y sus ligandos<sup>a</sup>.**

Receptor	Ligando
TLR1	Triacil-lipopéptidos (bacterias, micobacterias) Factores solubles ( <i>Neisseria meningitidis</i> )
TLR2	Peptidoglicanas y lipoproteínas Glicoinositolfosfolípidos ( <i>Trypanosoma cruzi</i> ) Glicolípidos ( <i>Treponema</i> ) Porinas ( <i>Neisseria</i> ) Zimosan (levaduras)
TLR3	ARN de doble cadena (virus)
TLR4	Lipopolisacáridos (Gram-negativos) Ácido lipoteicoico (Gram-positivos) Lipoarabinomananas (Micobacterias) HSP60 y HSP70 (propias del huéped)
TLR5	Flagelina (bacterias)
TLR6	Lipoproteínas (diacil-lipopéptidos de micoplasma)
TLR9	CpG ADN

No se han identificado con certeza los ligandos naturales para TLR7, TLR8 y TLR10.

<sup>a</sup>Basado en las referencias 69, 70



**Figura 11.** El LPS se enlaza con alta afinidad a CD14, una proteína glicosilada unida a fosfatidilinositol de la membrana de los macrófagos, y a la proteína TLR4. Esto conduce a la activación de la proteína transmembranal TLR4 y a la iniciación de una cascada de señalización intracelular. La señalización desde TLR4 hasta el complejo transcripcional de NF- $\kappa$ B e I $\kappa$ B ocurre a través del reclutamiento del factor de transcripción MyD88, de las quinasas asociadas al receptor para IL-1, IRAK-4 e IRAK1, del factor 6 asociado al receptor para el factor de necrosis tumoral (TRAF-6) y de las quinasas inducidas de NF- $\kappa$ B (IKK1 e IKK2). Estas quinasas fosforilan a I $\kappa$ B ocasionando su rápida degradación y la liberación de NF- $\kappa$ B, el cual entonces pasa al núcleo donde se enlaza a secuencias promotoras específicas de genes inmunomoduladores, promoviendo la síntesis de citocinas y de moléculas coestimuladoras que regulan la actividad de las células T y B, mediadoras de la inmunidad específica (esquema basado en las referencias 69, 70).

protozoarios (*Plasmodium falciparum*), pero las especies mencionadas seguramente no son las únicas que pueden hacerlo.<sup>73</sup>

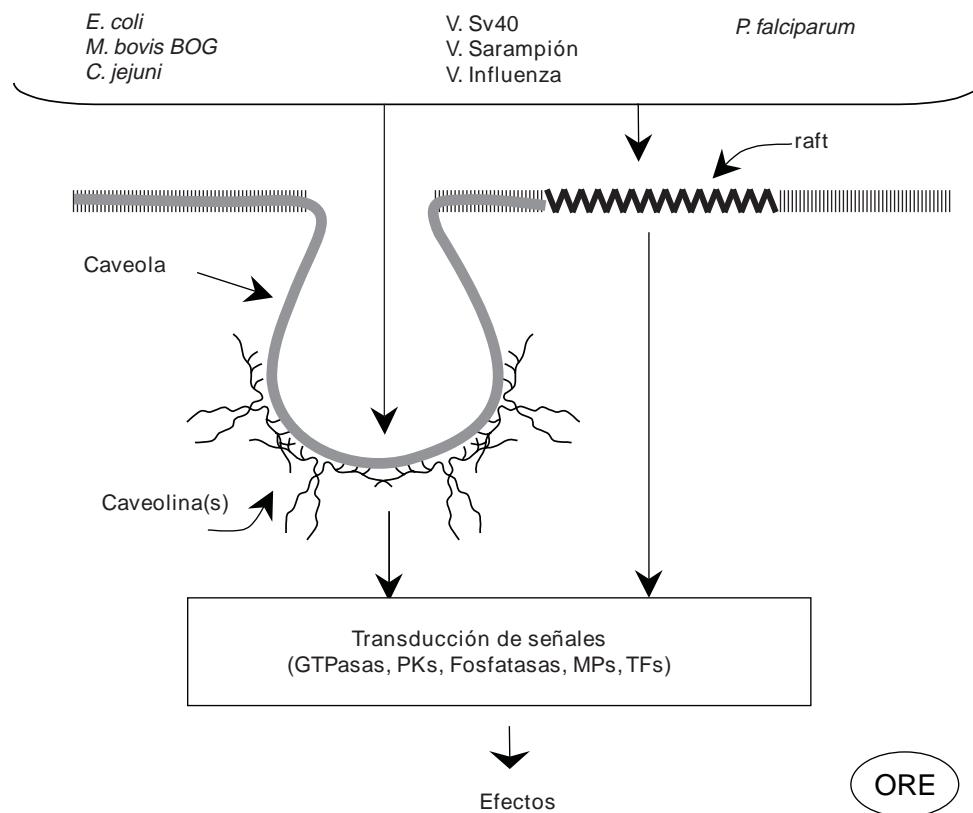
Todavía se desconocen las cascadas de señalización y las consecuencias que derivan de la interacción de los microorganismos con los rafts y las caveolas de las células fagocíticas pero seguramente tienen que ver con la inducción de la respuesta inflamatoria.

### MADURACIÓN DE LA VACUOLA FAGOSOMAL

Poco después de la internalización de la partícula ocurre la despolimerización de la actina F que en un principio queda asociada al fagosoma, y la recién desnudada membrana vacuolar se hace accesible a los endosomas tempranos.<sup>74</sup> Luego, a través de una serie de eventos de fusión y de fisión, la membrana vacuolar y su contenido maduran, fusionándose con endosomas tardíos y finalmente con lisosomas para formar el fago-

lisosoma. La velocidad de la fusión fagolisosomal varía ampliamente dependiendo de la partícula ingerida pero, en la mayoría de los casos, es completa a los 30 min.<sup>75-77</sup> También se ha propuesto que la naturaleza de la superficie de la partícula ingerida modifica la velocidad de maduración del fagosoma y que las superficies hidrofóbicas de las micobacterias, por ejemplo, interfieren con la fusión de los fagosomes con otros organelos.<sup>78</sup> La fusión fagolisosomal no necesariamente implica la fusión completa de las membranas, el paso del contenido lisosomal a la vacuola fagocítica puede ocurrir a través de *puentes acuosos estrechos* que sólo permiten el intercambio limitado del contenido vacuolar, fenómeno que permite preservar la identidad específica de cada organelo, y que es congruente con el concepto de reciclamiento de la membrana.<sup>79,80</sup>

Varias proteínas participan en la maduración del fagosoma, dentro de ellas, las anexinas. Estas proteínas se enlanzan a fosfolípidos en una forma dependien-



**Figura 12.** Algunos microorganismos penetran a las células fagocíticas a través de micro-regiones lipídicas llamadas rafts. Estas regiones contienen altas concentraciones de colesterol y de glicoesfingolípidos. Algunas veces las micro-regiones lipídicas aparecen como invaginaciones en forma de botella (caveolas) cuya superficie citoplasmica está recubierta por proteínas de la familia de las caveolinas. Los microorganismos que utilizan esta vía de entrada son bacterias, virus y protozoarios. Las caveolinas participan en el transporte de colesterol del citoplasma a la membrana y regulan la actividad de las proteínas de señalización presentes en la caveola (proteincinasas). A través de cascadas de señalización, en las que intervienen GTPasas, proteincinasas (PKs), fosfatasa, proteínas motoras (MPs), y factores de transcripción, las señales iniciadas en las caveolas se traducen en diversos efectos, entre ellos la polimerización de la actina y la activación del citoesqueleto. En la ilustración se señalan algunos de los microorganismos que pueden penetrar a través de rafts y caveolas (esquema basado en las referencias 76-78).

te de calcio y funcionan como puentes entre la membrana y el citoesqueleto.<sup>81</sup> Otras proteínas como las GTPasas rab5, rab7 y rap1 (proteínas G pequeñas), se asocian secuencialmente a los fagosomas, conforme éstos maduran. La presencia de estas proteínas es necesaria para que ocurra la fusión de los fagosomas con otros organelos que también las contienen. Así, la presencia de rab5 en los fagosomas permite su fusión con los endosomas tempranos, ricos en rab5, mientras que la adquisición posterior de rab7 por los fagosomas, permite su fusión con los endosomas tardíos, abundantes en rab7 y rap1.<sup>82-84</sup>

Como resultado de su interacción con el compartimento endosomal, los fagosomas no sólo presentan cambios en la composición de su membrana, tam-

bien muestran cambios en su contenido; por ejemplo, adquieren tempranamente catepsina H, una enzima abundante en los endosomas tempranos, y más tarde catepsina S, una enzima distinta de los endosomas tardíos.<sup>85</sup> Conforme maduran, los fagosomas se mueven sobre los microtúbulos y esto les permite interactuar con los componentes del sistema endosomal; el tráfico de los fagosomas sobre los microtúbulos está dirigido por una serie de proteínas como la dyneina, la dynactina y la kinesina.<sup>86</sup> Una revisión detallada del sistema endosomal, sus componentes y su función, aparece en un artículo publicado por Clague en 1998<sup>87</sup> y puede servir de base para los interesados en esta área de investigación.

## CAMBIOS METABÓLICOS ASOCIADOS A LA ENDOCITOSIS

Como resultado de su contacto con partículas ingeribles, ocurren en las células fagocíticas una serie de eventos asociados a cambios morfológicos y bioquímicos que incluyen la adherencia de la partícula y su englobamiento, la formación de la vacuola digestiva y la desgranulación lisosomal, con liberación de enzimas y otros componentes dentro de la vacuola digestiva.

En general, los eventos morfológicos asociados con vacuolación y desgranulación parecen ser muy similares en PMN y en macrófagos, sin embargo, los monocitos pueden tener la capacidad de síntesis continua de nuevos gránulos en su activo complejo de Golgi, la capacidad de desechar productos bacterianos por exocitosis y la capacidad para sobrevivir al acto fagocítico, en contraste con los PMN que generalmente mueren.

### REFERENCIAS

1. Aderem A, Underhill DM. Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu Rev Immunol* 1999; 170: 593-623.
2. Underhill DM, Ozinsky A. Phagocytosis of microbes: complexity in action. *Annu Rev Immunol* 2002; 20: 825-852.
3. Greenberg S, Grinstein S. Phagocytosis and innate immunity. *Curr Opin Immunol* 2002; 14: 136-145.
4. Bainton DF, Ullot JL, Farquhar MG. The development of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes in human bone marrow. *J Exp Med* 1971; 134: 907-939.
5. Dransfield I, Buckle AM, Savill JS, McDowall A, Haslett C, Hogg N. Neutrophil apoptosis is associated with a reduction in CD16 (Fc gamma RIII) expression. *J Immunol* 1994; 153: 1254-1263.
6. Gallin JI. Leukocyte adherence-related glycoproteins LFA-1, Mo-1, and p150,95: A new group of monoclonal antibodies, a new disease, and a possible opportunity to understand the molecular basis of leukocyte adherence. *J Infect Dis* 1985; 152: 661-664.
7. Etzioni A. Integrins: The glue of life. *Lancet* 1999; 353: 341-343.
8. Carlos TM, Harlan JM. Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood* 1994; 84: 2068-2101.
9. Frenette PS, Wagner DD. Adhesion molecules-Part II: blood vessels and blood cells. *N Engl J Med* 1996; 335: 43-48.
10. Rosales C, Brown EJ. Neutrophil receptors and modulation of the immune response. In: *The Neutrophil*. Ed for JS Abramson and JC Wheeler, London: Oxford University Press; 1993. p. 23-62.
11. Hayward AR, Harvey BA, Leonard J, Greenwood MC, Wood CB, Soothill JF. Delayed separation of the umbilical cord, widespread infections, and defective neutrophil mobility. *Lancet* 1979; 26: 1099-1001.
12. Abramson JS, Mills EL, Sawyer MK, Regelmann WR, Nelson JD, Quie PG. Recurrent infections and delayed separation of the umbilical cord in an infant with abnormal phagocytic cell locomotion and oxidative response during particle phagocytosis. *J Pediatrics* 1982; 99: 887-894.
13. Arnaout MA, Pitt J, Cohen HJ, Melamed J, Rosen FS, Colten HR. Deficiency of a granulocyte-membrane glycoprotein (gp150) in a boy with recurrent bacterial infections. *N Engl J Med* 1982; 306: 693-699.
14. Crowley CA, Curnutte JT, Rosin RE, Schwartz J, Gallin JI, Klempner M, et al. An inherited abnormality of neutrophil adhesion. Its genetic transmission and its association with a missing protein. *N Engl J Med* 1980; 302: 1163-1168.
15. Kohl S, Springer TA, Schmalstieg FC, Loo LS, Anderson DC. Defective natural killer cytotoxicity and polymorphonuclear leukocyte antibody-dependent cellular cytotoxicity in patients with LFA-1/OKM-1 deficiency. *J Immunol* 1984; 133: 2972-2978.
16. Arnaout MA, Todd RF, Dana N, Melamed J, Schlossman SF, Colten HR. Inhibition of phagocytosis of complement C3- or immunoglobulin-coated particles and of C3bi binding by monoclonal antibodies to a monocyte-granulocyte membrane glycoprotein (Mo1). *J Clin Invest* 1983; 72: 171-179.
17. Anderson DC, Schmalsteig FC, Finegold MJ, Hughes BJ, Rothlein R, Miller LJ, et al. The severe and moderate phenotypes of heritable Mac-1, LFA-1 deficiency: their quantitative definition and relation to leukocyte dysfunction and clinical features. *J Infect Dis* 1985; 152: 668-689.
18. Patarroyo M, Beatty PG, Serhan CN, Gahmberg CG. Identification of a cell-surface glycoprotein mediating adhesion in human granulocytes. *Scand J Immunol* 1985; 22: 19-631.
19. Beller DI, Springer TA, Schreiber RD. Anti-Mac-1 selectively inhibits the mouse and human type three complement receptor. *J Exp Med* 1982; 156: 1000-1009.
20. Wright SD, Rao PE, Van Voorhis WC, Craigmyle LS, Lida K, Talle MA, et al. Identification of the C3b1 receptor of human monocytes and macrophages by using monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1983; 80: 5699-5703.
21. Page RC, Sims TJ, Geissler F, Altman LC, Baab DA. Defective neutrophil and monocyte motility in patients with early onset periodontitis. *Infect Immun* 1985; 47: 169-175.
22. Van Dyke TE, Horoszewics HU, Cianciola LJ, Genco RJ. Neutrophil chemotaxis dysfunction in human periodontitis. *Infect Immun* 1980; 27: 124-132.
23. Frenette PS, Wagner DD. Adhesion molecules-Part I. *N Engl J Med* 1996; 335: 1526-1529.
24. Phillips ML, Schwartz BR, Etzioni A, Bayer R, Ochs HD, Paulson JC, et al. Neutrophil adhesion in leukocyte adhesion deficiency syndrome type 2. *J Clin Invest* 1995; 96: 2898-2906.
25. Marquardt T, Brune T, Luhn K, Zimmer KP, Fabritz L, van der Werft N, et al. Leukocyte adhesion deficiency II syndrome, a generalized defect in fucose metabolism. *J Pediatr* 1999; 134: 681-688.
26. Marquardt T, Luhn K, Srikrishna G, Freeze HH, Harms E, Westweber D. Correction of leukocyte adhesion deficiency type II with oral fucose. *Blood* 1999; 94: 3976-3985.
27. Linder ME, Gilman AG. G proteins. *Sci Amer* 1992; 267: 36-43.
28. Lefkowitz RJ. Clinical implications of basic research. G proteins in medicine. *N Engl J Med* 1995; 332: 186-187.
29. Birnbaumer L, Birnbaumer M. Signal transduction by G proteins. *J Recept Signal Transduct Res* 1997; 15: 213-252.
30. Quinn MT, Parkos CA, Walker L, Orkin SH, Dinauer MC, Jesaitis AJ. Association of a ras-related protein with cytochrome b of human neutrophils. *Nature* 1989; 342: 198-200.
31. Bokoch GM. Signal transduction by GTP binding proteins during leukocyte activation of phagocytic cells. *Curr Top Membr Transp* 1990; 35: 65-111.
32. Bokoch GM. Regulation of cell function by Rho family GTPases. *Immunol Res* 2000; 21: 139-148.
33. Aderem A. The Marcks brothers: A family of protein kinase C substrates. *Cell* 1992; 71: 713-716.
34. Rosen A, Keenan KF, Thelen M, Nairn AC, Aderem A. Activation of PKC results in the displacement of its myristoylated,

- alanin-rich substrate from punctuate structures in macrophage filopodia. *J Exp Med* 1990; 172: 1211-1215.
35. Kyat M, Anderson S, Allen LA, Aderem A. MARKS regulates membrane ruffling and cell spreading. *Curr Biol* 1997; 7: 611-614.
36. Vicente-Manzanares M, Sancho D, Yáñez-Mó, M, Sánchez-Madrid M. The leukocyte cytoskeleton in cell migration and immune interactions. *Internat Rev Cytol* 2002; 216: 233-289.
37. Olmsted JB, Borisy GG. Microtubules. *Annu Rev Biochem* 1973; 42: 507-540.
38. Lazarides E, Weber K. Actin antibody: The specific visualization of actin filaments in non-muscle cells. *Proc Natl Acad Sci* 1974; 71: 2268-2272.
39. Weber K, Groeschel-Stewart U. Antibody to myosin: the specific visualization of myosin-containing filaments in nonmuscle cells. *Proc Natl Acad Sci* 1974; 71: 4561-4564.
40. Lazarides E. Tropomyosin antibody: the specific localization of tropomyosin in non-muscle cells. *J Cell Biol* 1975; 65: 549-561.
41. Janmey PA. Mechanical properties of cytoskeletal polymers. *Curr Opin Cell Biol* 1991; 3: 4-11.
42. Sandahl E, Lindroth M, Bengtsson T, Farllman M, Gustavsson J, Stendahl O, et al. Association of ligand-receptor complexes with actin filaments in human neutrophils: A possible regulatory role for a G-protein. *J Cell Biol* 1990; 109: 2791-2799.
43. Southwick FS, Young CL. The actin released from profilin-actin complexes is insufficient to account for the increase in F-actin in chemoattractant-stimulated polymorphonuclear leukocytes. *J Cell Biol* 1990; 110: 1965-1973.
44. Snyderman R. Regulatory mechanisms of a chemoattractant receptor on human polymorphonuclear leukocytes. *Rev Infect Dis* 1985; 7: 390-394.
45. Saba TM. Aespecific opsonins. In: *The human system and infectious diseases*. Karger, Basel; 1975. p. 489-504.
46. Kaplan G. Differences in the mode of phagocytosis with Fc and C3 receptors in macrophages. *Scand J Immunol* 1977; 6: 797-807.
47. Johnson E, Eskeland T. Complement C3b receptor mediated phagocytosis of agarose beads by mouse macrophages. I. Intracellular degradation of agarose-bound C3bi and C3b by lysosomal enzymes. *Scand J Immunol* 1983; 18: 193-200.
48. Johnson E, Gauperaa T, Eskeland T. Fibronectin binds to complement-coated agarose beads and increases their association to mouse macrophages. *Scand J Immunol* 1985; 22: 315-320.
49. Bevilacqua MP, Amrani D, Mosesson MW, Bianco C. Receptors for cold insoluble globulin (plasma fibronectin) on human monocytes. *J Exp Med* 1981; 153: 42-60.
50. Proctor RA. Fibronectin: an enhancer of phagocytic function. *Rev Infect Dis* 1987; 9: 412-419.
51. Wright SD, Silverstein S. Tumor promoting phorbol esters stimulate C3b and C3bi receptor-mediated phagocytosis in cultured human monocytes. *J Exp Med* 1982; 156: 1149-1164.
52. Bianco C, Griffin FM, Silverstein SC. Studies of the macrophage complement receptor. Alterations of receptor function upon macrophage activation. *J Exp Med* 1975; 141: 1278-1282.
53. Wright SD, Craigmyle LS, Silverstein SC. Fibronectin and serum amyloid P component stimulate C3b and C3bi-mediated phagocytosis in cultured human monocytes. *J Exp Med* 1983; 158: 1338-1343.
54. Griffin JA, Griffin FM. Augmentation of macrophage complement receptor function *in vitro*. I. Characterization of the cellular interactions required for the generation of a T-lymphocyte product that enhances macrophage complement receptor function. *J Exp Med* 1979; 150: 653-675.
55. Tulkens P, Schneider YJ, Trouet A. The fate of the plasma membrane during endocytosis. *Biochem Rev* 1977; 5: 1809-1815.
56. Medzhitov R, Janeway CH. Innate immunity. *N Engl J Med* 2000; 343: 338-344.
57. Ravetch JV. Fc receptors: rubor redux. *Cell* 1994; 78: 553-560.
58. Ravetch JV. Fc receptors. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 121-125.
59. Unkeless JC, Jin J. Inhibitory receptors, ITIM sequences and phosphatases. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 338-343.
60. Reth M. Antigen receptor tail clue. *Nature* 1989; 338: 383-384.
61. Strzelecka A, Kwiatkowska K, Sobota A. Tyrosine phosphorylation and Fc gamma receptor-mediated phagocytosis. *FEBS Lett* 1997; 400: 11-14.
62. Greenberg S. Signal transduction of phagocytosis. *Trends Cell Biol* 1995; 5: 93-99.
63. Agarwal A, Salem P, Robbins KC. Involvement of p72syk, a protein-tyrosine kinase in Fc gamma receptor signalling. *J Biol Chem* 1993; 268: 15900-15905.
64. Kiener PA, Rankin BM, Burkhardt AL, Schieven GL, Gilliland LK, Rowley RB, et al. Cross-linking of Fc $\gamma$ RI and Fc $\gamma$ RII on monocytic cells activates a signal transduction pathway common to both Fc receptors that involves the stimulation of p72 Syk protein tyrosine kinase. *J Biol Chem* 1993; 268: 24442-24448.
65. Ghazizadeh S, Bolen JB, Fleith HB. Tyrosine phosphorylation and association of Syk with Fc $\gamma$ RII in monocytic THP-1 cells. *Biochem J* 1995; 74: 669-674.
66. Cox D, Chang P, Kurosaki T, Greenberg S. Syk tyrosine kinase is required for immunoreceptor tyrosine activation motif-dependent actin assembly. *J Biol Chem* 1996; 271: 16597-16602.
67. Greenberg S. Modular components of phagocytosis. *J Leuk Biol* 1999; 66: 712-717.
68. Ridley AJ, Paterson HF, Johnston CL, Diekmann D, Hall A. The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. *Cell* 1992; 70: 401-410.
69. Modlin RL, Brightbill HD, Godowski PJ. The Toll of innate immunity on microbial pathogens. *N Engl J Med* 1999; 340: 1834-1835.
70. Anderson KV. Toll signalling pathways in the innate immune response. *Curr Opin Immunol* 2000; 12: 13-19.
71. Jeoung-Sook S, Zhimin G, Soman NA. Involvement of cellular caveolae in bacterial entry into mast cells. *Science* 2000; 289: 785-788.
72. Schlegel A, Lisanti MP. Caveolae and their coat proteins, the caveolins: from electron microscopy novelty to biological launching pad. *J Cell Physiol* 2001; 186: 329-337.
73. Rosenberg CM, Brumell JH, Finlay BB. Microbial pathogenesis: lipid rafts as pathogen portals. *Current Biol* 2000; 10: R823-R825.
74. Swanson JA, Baer SC. Phagocytosis by zippers and triggers. *Trends Cell Biol* 1995; 5: 89-93.
75. Pitt A, Mayorga LS, Stahl PD, Schwartz AL. Alterations in the protein composition of maturing phagosomes. *J Clin Invest* 1992; 90: 1978-1983.
76. Racoosin EL, Swanson JA. Macropinosome maturation and fusion with tubular lysosomes in macrophages. *J Cell Biol* 1993; 121: 1011-1020.
77. Desjardins M, Huber LA, Parton RG, Griffiths G. Biogenesis of phagolysosomes proceeds through a sequential series of interactions with the endocytic apparatus. *J Cell Biol* 1994; 124: 677-688.
78. de Chastellier C, Thilo L. Phagosome maturation and fusion with lysosomes in relation to surface property and size of the phagocytic particle. *Eur J Cell Biol* 1997; 74: 49-62.

79. Berthiaume EP, Medina C, Swanson JA. Molecular size-fractionation during endocytosis in macrophages. *J Cell Biol* 1995; 129: 989-998.
80. Desjardins M, Nizala NN, Corsini R, Rondeau C. Maturation of phagosomes is accompanied by changes in their fusion properties and size-selective acquisition of solute materials from endosomes. *J Cell Sci* 1997; 110: 2303-2314.
81. Diakonova M, Gerke V, Ernst J, Liautard JP, van der VG, Griffiths G, et al. Localization of five annexins in J774 macrophages and on isolated phagosomes. *J Cell Sci* 1997; 110: 1199-1213.
82. Pizon V, Desjardins M, Bucci C, Parton RG, Zerial M. Association of rap-1a and rap-1b proteins with late endocytic phagocytic compartments and rap-2a with the Golgi complex. *J Cell Sci* 1994; 107: 1661-1670.
83. Gorvell JP, Chavrier P, Zerial M, Gruenberg J. Rab5 controls early endosome fusion *in vitro*. *Cell* 1991; 64: 915-925.
84. Feng Y, Press B, Wandinger-Ness A. Rab7: an important regulator of late endocytic membrane traffic. *J Cell Biol* 1995; 131: 1435-1452.
85. Claus V, Jahraus A, Tjelle T, Berg T, Kisrchke H, Faulstich H, et al. Lysosomal enzyme trafficking between phagosomes, endosomes and lysosomes in J774 macrophages. Enrichment of cathepsin H in early endosomes. *J Biol Chem* 1998; 273: 9842-9851.
86. Blocker A, Severin FF, Burkhardt JK, Bingham JB, Yu H, Olivo JC, et al. Molecular requirements for bidirectional movement of phagosomes along microtubules. *J Cell Biol* 1997; 137: 113-129.
87. Clague MJ. Molecular aspects of the endocytic pathway. *Biochem J* 1998; 336: 271-282.

