

## BM-9

## ANÁLISIS DE LA INTERACCIÓN ENTRE EL RECEPTOR TIPO TOLL Y EL VIRUS DE DENGUE 2 EN MONOCITOS HUMANOS

Hernández Orta Karla María, Vivanco Cid Héctor, Aguilera Alfonso Alexander, Crivelli Aurora Pariss.

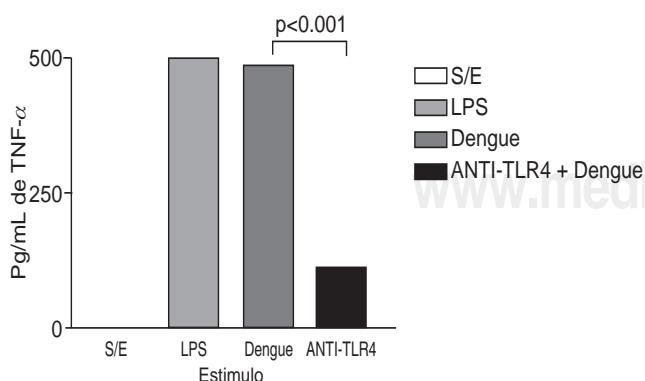
**Palabras claves:** Interacción, Dengue, TLR 4.

**Introducción:** El Dengue es una enfermedad infecciosa causada por cualquiera de los 4 serotipos del virus de Dengue. Se transmite por picadura de mosquito: *Aedes aegypti*.<sup>1</sup> Se desconoce la inmunopatogenia del virus en relación a receptores celulares; Uno de los descubrimientos más importantes que han llevado a explicar los mecanismos moleculares que propician la respuesta inflamatoria inducida por moléculas de origen microbiano, así como a comprender más el origen de cuadros patológicos que se presentan como consecuencia de una respuesta exacerbada, lo fue el descubrimiento de los receptores tipo Toll o TLRs.<sup>2</sup> Estos receptores localizados en la superficie de células fagocíticas, participan en la respuesta inmune innata a través del reconocimiento de moléculas presentes en patógenos, los llamados TOLL, participan en varias infecciones pero no están descritos en la infección por Dengue.<sup>3</sup>

**Objetivo:** Investigar si existe interacción entre el receptor TLR4 presente en la superficie celular de monocitos humanos, con el virus del Dengue serotipo 2.

**Metodología:** Se basó en la replicación del virus del Dengue serotipo 2 en cultivo celular (C6/36); y RT-PCR de RNA viral. Ensayos de interacción en monocitos humanos: Ensayo testigo negativo: cultivo de monocitos puros, Ensayo testigo positivo: cultivo de monocitos estimulados con Ag LPS, Ensayo experimental: cultivos de monocitos con estimulación viral y Ensayo control: cultivo de monocitos con bloqueo de receptor TOLL y estimulación viral. Determinación de citoquinas (TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-12) por ELISA. Y Citometría de flujo para expresión del receptor TOLL.

**Resultados:** Producción de Citoquinas: en la figura 1 se muestra que el TNF- $\alpha$  disminuyó su producción significativamente cuando los cultivos puros fueron bloqueados con anti-TLR4, mientras que sin bloqueo el estímulo viral aumentó su producción.

Figura 1. producción de TNF- $\alpha$ .

En la figura 2 se muestra la Inhibición en la expresión basal del Receptor TLR4 al ser estimulado con Virus del Dengue 2 en la membrana de monocitos humano.

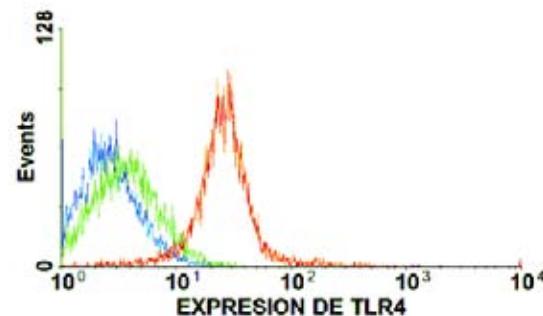


Figura 2. expresión de TLR 4.

**Discusión:** Los resultados obtenidos muestran que bloqueando al receptor TLR4 en monocitos humanos, se inhibe en un porcentaje significativo la producción de uno de los principales mediadores inflamatorios durante la infección por Dengue: TNF- $\alpha$ . El efecto de bloqueo fue selectivo para esta citocina, ya que al analizar la producción de IL-8 e IL-12, no hubo diferencias al comparar las células estimuladas (con o sin bloqueo para TLR4) contra células control que no lo fueron (células sin estímulo). Finalmente se analizó la modulación en la expresión de TLR4 en monocitos humanos que fueron estimulados con Virus Dengue, encontrando que la estimulación induce disminución en la expresión de la proteína en superficie, lo cual fue visualizado por citometría de flujo.

**Conclusión:** El receptor TLR4 participa en el reconocimiento y la activación inducida por el serotipo 2 del virus del Dengue en monocitos humanos ya que el bloqueo con un anticuerpo monoclonal específico para TLR4 impide selectivamente la secreción de TNF- $\alpha$ , principal citocina inflamatoria que es producida in vivo e in vitro. Los resultados obtenidos por citometría de flujo nos demuestran que la estimulación de monocitos humanos con el serotipo 2 del virus del Dengue, promueve un cambio fenotípico en esta población, al promover la disminución en la expresión del receptor TLR4, que no ha sido reportado previamente.

## REFERENCIAS

- McBride WJ, Bielefeldt-Ohmann H. Dengue viral infections; pathogenesis and epidemiology. *Microbes Infect.* 2000; 2: 1041-1050.
- Rock FL, Hardiman G, Timans JC, Kasteler RA, Bazan JF. A family of human receptors structurally related to *Drosophila* Toll. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998; 95: 588-593.
- Chen YC, Wang SY, King CC. Bacterial lipopolysaccharide inhibits dengue virus infection of primary human monocytes/macrophages by blockade of virus entry via a CD14-dependent mechanism. *J Virol.* 1999; 73: 2650-2657.