

Monografía

Respuesta inmune, innata y adaptativa: ¿Son los TLRs el eslabón perdido?

Luis F Montaña,¹ F Raúl Chávez¹¹ Laboratorio de Inmunología, Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina, UNAM.

El concepto de la subdivisión de la respuesta inmune en adaptativa e innata, está enfrentando un cambio. La respuesta inmune adaptativa es mediada por linfocitos B y T y tiene como características el hecho de ser específica, discriminar entre lo propio y lo extraño y poseer memoria, mientras que la respuesta inmune innata siempre se ha considerado como inespecífica, carente de memoria, y caracterizada por la fagocitosis y digestión indiscriminada de partículas extrañas y microorganismos por los macrófagos y los leucocitos. Todo parecería indicar que son dos mecanismos totalmente ajenos el uno del otro.

Nada más alejado de la realidad. Ahora se sabe que la respuesta inmune innata sí tiene especificidad, sí discrimina entre lo propio y lo extraño, y su activación es un prerequisite para que se inicie la respuesta inmune adaptativa.

La respuesta inmune adaptativa depende de la generación de diversas subpoblaciones de linfocitos T cooperadores (Th por sus siglas en inglés, h = helper) y la consecuente producción y secreción de citocinas. Los linfocitos Th en estado no diferenciado, conocidos como linfocitos Th0, requieren que células profesionales presentadoras de antígeno (células dendríticas) le «presenten» antígeno y señales coestimuladoras (CD40, CD80, CD86) para poder diferenciarse en linfocitos Th1, que son células que secretan interferón gamma y son responsables de colaborar en la respuesta inmune celular, o bien en linfocitos Th2, que secretan interleucina 3 (IL-4), IL-5, IL-10 e IL-13 y son responsables de colaborar en la respuesta inmune humoral. La diferenciación del linfocito Th0 hacia Th1 o Th2 también depende del tipo de célula dendrítica, el tejido en el que se originó la célula dendrítica y la proporción relativa de células dendríticas/linfocitos Th0 en los ganglios linfáticos, que es el sitio en el que se lleva a cabo la activación de los linfocitos; otro factor más, primordial durante las fases tempranas de la infección, es la presencia de IL-12 (favorece diferenciación a Th1) o IL-4 (favorece diferenciación a Th2), lo cual a su vez depende de si la infección es intracelular (IL-12) o extracelular (IL-4). El balance entre la cantidad de linfocitos Th1 y Th2 también regula la evolución de enfermedades autoinmunes (predominante-

mente poseen respuestas Th1) o alérgicas (predominantemente poseen respuestas Th2). Se sabe desde hace tiempo que los adyuvantes, moléculas derivadas o componentes de microbios, incrementan la secreción de citocinas, aumentan la expresión de moléculas coestimuladoras y refuerzan la intensidad con la que las células dendríticas efectúan la presentación antigénica.

¿Y esto qué tiene que ver con la respuesta inmune innata?

Pues todo el reconocimiento inicial de las moléculas derivadas de microbios es efectuado por los TLRs expresados en las células dendríticas.

¿Qué son los TLRs?

TLR significa Toll-Like Receptor, y son el equivalente en mamíferos de los Toll-Receptors descritos en las moscas, los cuales las protegen contra las infecciones por hongos. Estos receptores también se conocen como PRR (del inglés Pattern Recognition Receptors).

La región intracitoplásmica de los TLRs se asemeja a la de los receptores de IL-1, pero las regiones extracelulares son completamente diferentes, ya que en vez de los tres dominios similares a inmunoglobulina poseen muchas regiones con repeticiones ricas en leucina.

La activación celular vía los TLR requiere de la participación de moléculas adaptadoras como MyD88 (myeloid differentiation factor 88), Mal (MyD88 adaptor-like), MD-1 y MD-2. La cascada de activación puede ser MyD88 dependiente o MyD88 independiente. En la activación vía TLR, participan diversas moléculas como IRAK (IL-1R associated factor 6), TRAF6 (TNF receptor associated factor 6), la familia de proteínas IκB (inhibitor of nuclear factor κB), NF-κB (nuclear factor κB), la activación de AP-1, y la familia de factores de transcripción IRF.

En el humano existen 11 diferentes TLRs (cuadro 1). La cantidad de moléculas TLRs que se expresan en las células dendríticas es menor a 1,000; además también los expresan los monocitos, células endoteliales, adipocitos, miocitos

Cuadro 1. Ligandos reconocidos de los diferentes TLRs.

TLR-1/TLR-2	Tri-acil lipopéptidos (bacterianos, micoplasmas), factores solubles
TLR-2	Peptidoglicanos, lipopéptidos, zymosan, glicosilfosfolinosoles, glicolípidos, LTA, LAM, porinas, LPS atípicos, HSP70 (huésped)
TLR-3	RNA viral de doble cadena
TLR-4	LPS, taxol, proteínas virales de fusión y envoltura, HSP60 (bacteriano), otras proteínas del huésped
TLR-5	Flagelina
TLR-6/TLR-2	Di-acil lipopéptido (micoplasma)
TLR-7	Ligandos sintéticos: Imidazoquinolona, loxoribina, bropirimina
TLR-8	RNA de cadena simple
TLR-9	CpG de DNA no metilado
TLR-10	?
TLR-11	Bacterias uropatogénicas, profilina

cardíacos, neutrófilos y células epiteliales del intestino, del tracto bronquial, riñón, vejiga, mucosa oral y ocular.

Para que una célula profesional presentadora de antígeno pase del estado inmaduro al maduro requiere ser activada por citocinas inflamatorias, por microbios o por los productos microbianos que son reconocidos por los TLRs. Cuando esta célula es activada a través de TLRs empiezan a secretar especies reactivas de oxígeno, citocinas inflamatorias, interferones y quimiocinas.

En resumen, se puede decir que los TLRs son sensores moleculares que detectan productos derivados de patógenos e inician respuestas protectoras que van desde la inflamación a una respuesta de tipo adaptativa, a través de estimular la secreción de citocinas que aumentan la resistencia de las células infectadas, la secreción de quimiocinas que reclutan células inmunes y la muerte celular que limita la dispersión de los microbios.

¿Quiénes expresan TLRs?

A manera de enfatizar algunas relaciones mencionemos que el TLR4 y el TLR9 se expresan en células dendríticas derivadas de monolitos y en células dendríticas plasmacitoides.

¿Cuáles son los ligandos que reconocen los TLRs?

La secuencia de las proteínas que son reconocidas por los TLRs se conoce como PAMP (del inglés Pathogen Associated Molecular Patterns). Estas secuencias son altamente conservadas, es decir, difícilmente sufren alteraciones durante la evolución. La lista es numerosa y es por eso que se incluye el cuadro 1. Otras moléculas que son reconocidas incluyen algunos productos de células dañadas tales como las b-defensinas y lípidos oxidados o proteínas modificadas por oxidación o por nitración. El uso de CpG (ligando del TLR9) como adyuvante en la vacuna contra hepatitis viral ha incrementado su inmunogenicidad de manera importan-

te. Este mismo ligando ha demostrado su utilidad en algunos tipos de cáncer pulmonar. El RNA viral de doble cadena estimula la apoptosis de células infectadas por virus y se sabe que en células de cáncer de mama lo hacen a través del TLR3 (cuadro 1).

¿En qué enfermedades se involucra a los TLRs?

El asma y la disminución en la sensibilidad de las vías aéreas al lipopolisacárido se asocia a un polimorfismo del TLR4. La sarcoidosis también se asocia a polimorfismos en el TLR4, al igual que el rechazo a trasplantes alogénicos. Se ha encontrado sobreexpresión de TLR4 en placas ateroscleróticas y en las células epiteliales de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. Las mutaciones en TLR2 se han asociado con tuberculosis, neumonía, infecciones por estafilococo e inmunodeficiencia. El TLR9 se ha asociado con lupus eritematoso sistémico. La neumonía por *Legionella* se asocia con polimorfismos del TLR5, al igual que la esclerosis múltiple. La infección por virus sincicial respiratorio se asocia a sobre-presión de TLR3 en el epitelio de la mucosa bronquial. Los polimorfismos de TLR2 y TLR4 primordialmente también se han asociado con necrosis tubular aguda, psoriasis, malaria, artritis reumatoide, nacimiento prematuro, fertilidad, angiogénesis de tumores, remodelación de los ventrículos cardíacos, isquemia cardíaca, enfermedad arterial de las coronarias, síndrome de estrés respiratorio.

¿Existe otra manera de activar a la inmunidad innata?

Sí. Recientemente se ha descrito la presencia de Dectina-1, un receptor del tipo lectina C (calcio dependiente) que reconoce e internaliza polisacáridos ricos en glucosa, especialmente presentes en hongos, para su posterior procesamiento y presentación. Se expresa en células dendríticas, células de Langerhans, macrófagos, monolitos y neutrófilos. Cuando las células dendríticas son activadas a través de TLR2/TLR6 y Dectina-1 se secretan citocinas regulatorias (IL-10 y TGF- β)

Cuadro 2. Receptores de tipo lectina C que expresan las células dendríticas

Nombre del receptor	Azúcar que reconoce
Receptor para asialoglicoproteína	Galactosa
BDCA-2*	Galactosa
CLEC-1	b-glucanos
CLEC-2	b-glucanos
Dectina-1	b-glucanos
DCIR*	b-glucanos
DC-SIGN*	manosa
Langerina	manosa
DEC-205	manosa
Receptor de manosa	manosa

*Blood Dendritic Cell Antigen; DCIR, Dendritic Cell Immunoreceptor; DC-SIGN, Dendritic Cell Specific ICAM-3 Grabbing Non-integrin; DEC-205, corresponde al LCDM-205; Langerina, corresponde al LCDM-207. LCDM, Lymphocyte Cell Differentiation Molecule anteriormente conocido como CD (Cluster Differentiation).

en lugar de citocinas pro-inflamatorias (IL-6, IL-12 o TNF- α) que son inducidas por TLR2. Otros miembros de la familia de receptores de tipo lectina C que reconocen otros azúcares (galactosa, manosa) se describen en el cuadro 2; la activación simultánea de TLR y DC-SIGN o BDCA-2 o receptor de manosa también genera señales anti inflamatorias.

El cuadro 3 muestra los TLRs y receptores de tipo lectina C que coexpresan algunas células dendríticas. Parece ser que diversos patógenos y algunos tumores utilizan estos receptores tipo lectina C para evadir la degradación intracelular y por ende, la respuesta inmune.

¿Existe algún otro mecanismo que regule la activación de la inmunidad innata mediada por TLRs?

Por supuesto. Recientemente se reportó la presencia de un receptor que contiene un solo dominio de inmunoglobulina y un dominio TIR (Toll-like Interleukin-1 Receptor) el cual se designó como SIGIRR, que se localiza físicamente en la cercanía de los TLR4, TLR5 y TLR9 de las células dendríticas y cuya función es inhibir las vías de señalización celular que se activan mediante esos TLRs. Aunque se desconoce bajo qué circunstancias, se sabe que la IL-1 y el LPS son capaces de incrementar la expresión de este receptor, regulando así la intensidad de la respuesta inflamatoria. También se ha descrito una proteína de 80 kDa en la leche materna que inhibe la activación de células epiteliales gástricas mediadas por TLR2 y TLR3 pero que favorece la mediada por TLR4 y TLR5; esta actividad diferencial influye en el reconocimiento de microbios en los neonatos y por ende se relaciona no sólo con la protección a infecciones sino también con la inducción de intolerancia alimenticia.

Cuadro 3. Coexpresión de TLRs y receptores de tipo lectina C en células dendríticas.

CD plasmacitoide	TLR7	BDCA-2
CD mielóide	TLR1	DC-SIGN
	TLR2	DEC-205
CD intestinales	TLR1	Receptor asialoglicoproteína
	TLR2	Dectina-1
	TLR3	CLEC-1
	TLR4	CLEC-2
	TLR5	DCIR

Referencias

- Engering A, Geijtenbeek TB, van Kooyk Y. Immune escape through C-type lectins on dendritic cells. *Trends Immunol* 2002; 23: 480-85.
- Dillon S, Agrawal S, Banerjee K, Letterio J, Denning TL, Oswald-Richter K, Kasprovicz DJ, Kellar K, Pare J, van Dyke T, Ziegler S, Unutmaz D, Pulendran B. Yeast zymosan, a stimulus for TLR2 and dectin-1, induces regulatory antigen-presenting cells and immunological tolerance. *J Clin Invest* 2006 (Epub ahead of print).
- Mukhopadhyay S, Herre J, Brown GD, Gordon S. The potential for Toll-like receptors to collaborate with other innate immune receptors. *Immunology* 2004; 112: 521-30.
- Herre J, Gordon S, Brown GD. Dectin-1 and its role in the recognition of beta-glucans by macrophages. *Mol Immunol* 2004; 40: 869-76.
- Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. *Cell* 2002; 111: 927-30.
- Underhill DM. Toll-like receptors: networking for success. *Eur J Immunol* 2003; 33: 1767-75.
- Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol* 2005; 17: 1-14.
- Werling D, Jungi TW. Toll-like receptors linking innate and adaptive immune response. *Vet Immunol Immunopathol* 2003; 91: 1-12.
- Salaun B, Coste I, Rissoan MC, Lebecque SJ, Renno T. TLR3 can directly trigger apoptosis in human cancer cells. *J Immunol* 2006; 176: 4894-901.
- LeBouder E, Rey-Nores JE, Raby AC, Affolter M, Vidal K, Thornton CA, Labeta MO. Modulation of neonatal microbial recognition: TLR-mediated innate immune responses are specifically and differentially modulated by human milk. *J Immunol* 2006; 176: 3742-3752.
- Kirk P, Bazan JF. Pathogen recognition: TLRs throw us a curve. *Immunity* 2005; 23: 347-50.
- Sirard JC, Bayardo M, Didierlaurent A. Pathogen-specific TLR signaling in mucosa: mutual contribution of microbial TLR agonists and virulence factors. *Eur J Immunol* 2006; 36: 260-63.
- Tsan MF. Toll-like receptors, inflammation and cancer. *Semin Cancer Biol* 2006; 16: 32-37.
- Lauw FN, Caffrey DR, Golenbock DT. Of mice and man: TLR11 (finally) finds profiling. *Trends Immunol* 2005; 26: 509-11.
- Ishii KJ, Akira S. Innate immune recognition of nucleic acids: beyond toll-like receptors. *Int J Cancer* 2005; 117: 517-23.
- Takeda K et al. *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 335-76.
- Akira S et al. *Nature Rev Immunol* 2004; 4: 499-511.