Control Molecular de la Inflamación: Regulación de los Receptores Tipo Toll*

Aimée Domínguez Nieto[1], Alejandro Zentella Dehesa[2] y Juan Raymundo Velázquez Rodríguez[1]

RESUMEN

El origen e intensidad de la mayoría de los padecimientos inflamatorios es causado cuando existe la producción descontrolada de mediadores que regulan dichos procesos. Partiendo de la necesidad de entender estas patologías, se ha identificado a la familia de receptores tipo Toll que detectan patrones moleculares asociados a daño (DAMP´s por sus siglas en inglés); este reconocimiento desencadena procesos intracelulares que finalizan en la expresión de mediadores inflamatorios. La gran interrogante actual es cómo son controlados estos mecanismos y qué disfunciones conducen a estados de enfermedad; en la presente revisión abordaremos cómo son activadas y reguladas las vías de señalización de esta familia de receptores.

PALABRAS CLAVE: Inmunidad innata, patrones moleculares asociados a patógenos, alarminas, señalización, proteínas acopladoras.

ABSTRACT

The origin and intensity of most inflammatory illnesses is caused by the unbalanced production of mediators that regulate these processes. In an attempt to better understand these pathologies, a Toll like receptors family that detect molecular patterns associated to danger (DAMP's) has been identified; recognition of these signals by these family of receptors starts intracellular processes that lead to the expression of inflammatory mediators. The current question is to understand how these mechanisms are controlled and what are the dysfunctions that lead to disease states; this review cover how are activated and regulated the signaling pathways of these receptors family.

KEY WORDS: Innate immunity, molecular patterns associated to pathogens, alarmins, signaling, adaptor protein.

INTRODUCCIÓN

El sistema inmune es el encargado de eliminar a los microorganismos patógenos o al tejido deteriorado cuando existe una infección o algún daño tisular. Al sitio donde ocurre la agresión, arriban diversos tipos celulares del sistema inmune innato que producen factores solubles que desencadenan el proceso fisiológico denominado inflamación, esta primera fase es general e inespecífica y es seguida por la respuesta inmune adaptativa que gracias a la generación de anticuerpos es altamente específica.

Los signos característicos de la inflamación han sido definidos con las cuatro palabras latinas: calor, dolor,

Abreviaturas: Btk: tirosina cinasa de Bruton, CpG: secuencias no metiladas en el DNA bacteriano, DAMPs: patrones moleculares asociados a daño, DD: dominio de muerte, DI: dominio intermedio, dsRNA: RNA de doble cadena, HMGB1: proteínas nucleares de alta movilidad electroforética, HSPs: proteínas de choque térmico, IFN: interferón, IκB: proteína inhibidora κB, IKKs: cinasas de IκB, IL: interleucina, IRAK: cinasa asociada al receptor de IL-1, IRF-3: factor regulador de IFN-3, LPS: lipopolisacárido, MAPK: proteína cinasa activada por mitógeno, MyD88: factor de diferenciación mieloide 88, NF-κB: factor nuclear κ B, PAMPs: patrones moleculares asociados a patógenos, RAGE: receptor para productos de glicosilación avanzada, SIGIRR: molécula relacionada al receptor de inmunoglobulina interleucina1, SOCS1: supresor de la señalización de citocinas 1, ssRNA: RNA de cadena sencilla, TAB: proteínas de unión a TAK, TAK1: cinasa activada de TGF-β TIR: receptor Toll/IL-1, TIRAP: proteína adaptadora que contiene el dominio TIR, TLRs: receptores tipo Toll, TRAF-6: Factor asociado al receptor de TNF, TRAM: molécula adaptadora relacionada a TRIF, TRIF: adaptador que contiene el dominio TIR e induce IFN-β.

*Recibido: 27 de marzo de 2009 Aceptado: 13 octubre de 2009

[1]Unidad de Investigación Médica de Zacatecas, Instituto Mexicano del Seguro Social, Zacatecas, Zac., México. [2]Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán & Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM, México D.F., México. Correo E: aimee_120579@hotmail.com

rubor y tumor, aunque el fenómeno ya era conocido desde la época de los griegos. Actualmente sabemos que estos signos son inducidos por la acción de factores solubles, entre los que destacan las citocinas y las quimiocinas.

Las citocinas son proteínas que funcionan como señales que regulan tanto el crecimiento como la maduración de los diferentes tipos celulares que participan en el proceso inflamatorio; por su parte las quimiocinas también son proteínas cuya acción es atraer a las células del sistema inmune al sitio dañado, tanto las citocinas como las quimiocinas son reconocidas por receptores específicos que se encuentran en la membrana de los elementos celulares reclutados.

Las citocinas y las quimiocinas dan inicio al proceso inflamatorio al promover la dilatación y el incremento de la permeabilidad en los vasos sanguíneos, el aumento de la expresión de moléculas de adhesión en las paredes de estos vasos provocan que neutrófilos y monocitos se adhieran, atraviesen activamente las paredes vasculares y migren al lugar de la agresión.

Al arribar al sitio lesionado, los monocitos se diferencian a macrófagos que junto con los neutrófilos inician el proceso fagocítico, paralelamente, los eosinófilos y basófilos liberan gránulos especializados que contienen productos citotóxicos. Esta combinación de mecanismos logra eliminar tanto a los microorganismos patógenos como al tejido agredido.

Esta respuesta denominada "celular o innata" se caracteriza por ser inmediata, ya que se desarrolla dentro de las primeras cuatro horas de detección de la presencia del agente patógeno o del daño tisular en el hospedero.

A diferencia de los linfocitos, principales miembros de la inmunidad adaptativa, las células de la inmunidad innata no son capaces de producir anticuerpos ni presentan receptores específicos de antígenos; esta notable diferencia entre los representantes celulares característicos del sistema inmune innato y adaptativo fue motivo de una inquietante especulación alrededor del cómo se identifican los antígenos agresores durante la respuesta inmune innata.

Ahora sabemos que una estrategia de reconocimiento que utiliza el sistema inmune innato involucra receptores membranales evolutivamente conservados denominados receptores tipo Toll (TLRs), estos receptores identifican moléculas que se encuentran en la superficie de patógenos o que son liberadas por tejido necrótico (1).

Estas moléculas que se interpretan como "señales de peligro" forman parte de un grupo denominado patrones moleculares asociados a daño (DAMPs por sus siglas en inglés) integrado por: los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs por sus siglas en inglés) y las alarminas que son proteínas intracelulares liberadas por células necróticas (2). Así, la estimulación de los TLRs por moléculas DAMPs inducen la expresión de la gran mayoría de los genes involucrados en procesos inmunológicos de inmunidad innata entre los que destacan IL-1β e IL-6.

Enfermedades como el choque séptico, la autoinmunidad y la ateroesclerosis tienen una estrecha relación con el desequilibrio en la respuesta inflamatoria, entender la modulación de la inflamación es esencial para el diseño de nuevos tratamientos que mitiguen este tipo de patologías.

Nuestra intención es describir qué regula la respuesta mediada por los TLRs.

RECEPTORES TIPO TOLL

En 1988 Nusslein-Volhard acuñó el término Toll que en alemán significa extraordinario para referirse a un gen que codifica para un receptor de membrana involucrado en el desarrollo dorso-ventral de la mosca de la fruta, ya que cuando estos insectos carecían de esta proteína se desarrollaban de manera fuera de lo común (3), de ahí que en un principio los TLRs se relacionaran con la diferenciación morfológica de este insecto.

A mediados de los años noventas del siglo pasado, se descubrió que la defensa fisiológica generada por la mosca de la fruta consistía en la producción de diferentes péptidos antimicrobianos (3). Los promotores de los genes que codifican estos péptidos contienen secuencias de reconocimiento para el factor nuclear κ B (NF-κB), este factor de transcripción es central para la expresión de genes relacionados con la reacción inflamatoria, el control de la proliferación celular y la resistencia a la apoptosis (4).

Fue el grupo de Hoffmann el cual encontró que las moscas adultas que no expresaban el factor de transcripción denominado "dorsal", proteína de la familia NF-κB y regulada por Toll, morían de infecciones causadas por hongos (3); de esta manera se estableció la relación entre los genes involucrados con la defensa del hospedero y dicho receptor.

El primer TLR humano fue descrito en 1997, actualmente sabemos que la familia TLR cuenta con 13 miembros; estos receptores presentan tres regiones estructurales: el extremo amino que contiene la región extracelular y el dominio de unión al ligando que se caracteriza por presentar secuencias repetidas ricas en leucina, una región transmembranal, y el extremo carboxilo contiene la región intracelular que contiene un dominio TIR (receptor Toll/IL-1) que originalmente se identificó en el receptor de IL-1.

Los receptores Toll reconocen a sus ligandos en forma de homo - o heterodímeros (5) y han sido clasificados dependiendo del tipo de

DAMP´s que identifican: PAMP´s o alarminas (Tabla 1), la exquisita especificidad de esta familia de receptores ha detonado un amplio interés en el campo de la inmunidad innata.

El primer TLR descrito y mejor caracterizado debido a su relación con el choque séptico fue TLR4, éste identifica al lipopolisacárido (LPS) de bacterias Gram negativas.

El RNA de doble cadena (dsRNA) es reconocido por TLR3, en tanto el RNA de cadena sencilla (ssRNA) por TLR7 y 8, y las secuencias CpG no metiladas en el DNA bacteriano por TLR9. La flagelina se describió como ligando de TLR5 y la profilina de TLR11 (sólo en ratón). El TLR2 es el único capaz de formar heterodímeros, uniéndose a TLR1 o TLR6 y responde tanto a lipopéptidos de bacterias Gram positivas y hongos, así como a glicerofosfatidil inositol de parásitos (6). A la fecha, se desconocen los PAMPs reconocidos por TLR10, 12 y 13.

Las alarminas integran un conjunto de patrones moleculares de reciente descubrimiento y como habíamos mencionado son proteínas intracelulares liberadas cuando existe daño tisular o celular (2); entre ellas se ha identificado la molécula HMGB1 (high mobility group box 1) que es una proteína nuclear liberada por células necróticas que forma un complejo con RAGE (receptor for advanced glycation end products) y con secuencias CpG no metiladas de DNA bacteriano (7), la formación de éste complejo DNA-proteico estimula la activación de TLR9.

Otro miembro de las alarminas son las proteínas de choque térmico (HSPs), moléculas chaperonas que corrigen el plegamiento de nuevas proteínas y también son secretadas por células necróticas, entre ellas se encuentran HSP60, PRAT4A y gp96 que interactúan con TLR4 (8).

Cada tipo celular presenta diferente expresión y distribución de los TLRs mencionados, diferentes reportes señalan que en las superficies celulares se expresan TLR1, 2 y 4 mientras que en compartimentos intracelulares de tipo endosomal se ubica a TLR3, 7, 8 y 9. Sólo en la cara basolateral de células de epitelio intestinal, se ha localizado la presencia de TLR5 y en células epiteliales de vejiga la de TLR11 (sólo en ratón) (6).

TABLA 1

PAMP´s	
TLR´s homodiméricos	
TLR4	Lipopolisacáridos de bacterias gram-
TLR3	ARN de cadena doble
TLR7,TLR8	ARN de cadena sencilla
TLR9	CpG DNA: Secuencias de ADN no metilado
TLR5	Flagelina
TLR11	Profilina
TLR10,TLR12,TLR13	Desconocido
TLR´s heterodiméricos	
TLR2/TLR1	Lipopéptidos de bacterias gram+
TLR2/TLR6	Lipopéptidos de micobacterias
ALARMINAS	
TLR´s homodiméricos	
TLR9	RAGE:receptor para productos de glicosilación avanzada/HMGB: proteínas nucleares de alta movilidad electroforética/ CpG DNA: Secuencias de ADN no metilado
TLR4	HSPs: Proteínas de choque térmico

Clasificación de los receptores tipo Toll y del tipo de patrones moleculares asociados a daño (DAMP´s por sus siglas en inglés) que identifican: patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP's por sus siglas en inglés) o alarminas. Modificada de Ref.13.

SEÑALIZACION DE VIAS ACTIVADAS POR TLRs

La interacción entre los TLRs y los DAMPs da origen a una secuencia de eventos intracelulares que culminan con la expresión de genes relacionados a la inflamación, dependiendo de la naturaleza de la señal de peligro y de los TLRs implicados son activadas diferentes vías de señalización.

El funcionamiento de estas rutas puede ser dependiente o independiente de la proteína acopladora MyD88 (factor de diferenciación mieloide 88) (9) (Fig. 1).

Cuando la activación de la vía es dependiente de MyD88:

1) Esta proteína acopladora se recluta y asocia con los TLRs a través de los dominios TIR de ambas moléculas, este evento permite que MyD88 se una a IRAK-4 (cinasa 4 asociada al receptor de IL-1) a través de su dominio intermedio (DI) y a IRAK-1 mediante su dominio de muerte (DD); la proximidad entre ambas cinasas provoca que IRAK-4 fosforile a IRAK-1.

2) IRAK-1 fosforilado se une a la proteína TRAF-6 (Factor asociado al receptor de TNF), ambos se disocian

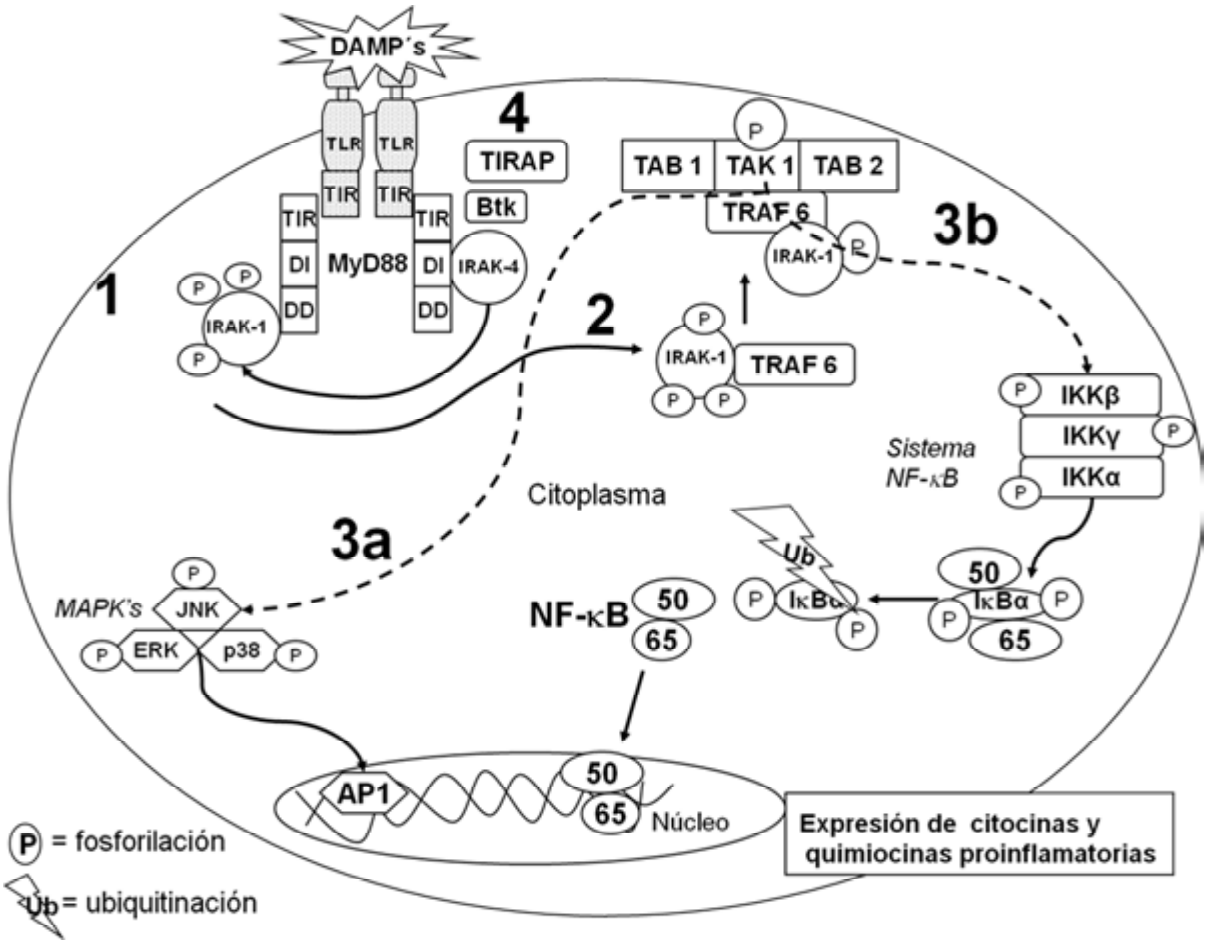

Figura 1. *Activación de la vía de receptores tipo Toll a través de la proteína acopladora MyD88 que activa a la vía de las MAP-cinasas y del sistema NF-κB. Los números indican la secuencia en que se dan las cuatro etapas descritas en el texto. Figura modificada de Ref. 9.*

del complejo del receptor e interactúan con otro grupo proteico formado por TAK1 (cinasa activada de TGF-β) y TAB1 y 2 (proteínas de unión a TAK1).

3) Una vez formado este complejo proteico surgen dos vías independientes de señalización: una que lleva a la activación de las MAP cinasas (3a) y otra que conduce a la activación del sistema NF-κB (3b). En la primera ruta (3a), la activación de TAK1 induce la fosforilación de las MAPK´s cinasas (ERK, JNK y p38) promoviendo la translocación nuclear del factor AP1; en la segunda ruta (3b), TAK 1 fosforila el complejo de cinasas de IκB (IKKs) que a su vez fosforilan a IκB marcándolo para su ubiquitinación y subsecuente destrucción por el proteasoma. El dímero NF-κB (p50,p65) se transloca al núcleo cuando la secuencia de localización nuclear queda expuesta, ya en el núcleo, el factor transcripcional se une a sus elementos de respuesta en los promotores de sus genes blanco (10).

4) En la búsqueda de moléculas estructuralmente similares a MyD88 se identificó a TIRAP, otra proteína adaptadora que también contiene el dominio TIR (11), esta proteína ayuda a MyD88 en la señalización cuando sólo son activados TLR2 o TLR4. También fue caracterizada la tirosina cinasa de Bruton (Btk) que interactúa con el dominio TIR de la mayoría de los TLRs (12).

La vía independiente a la proteína acopladora MyD88 sólo es empleada por TLR3 y TLR4; ambos receptores señalizan a través de la proteína TRIF (adaptador que contiene el dominio TIR e induce IFN-β) y sólo TLR4 ocupa a la proteína TRAM (molécula adaptadora relacionada a TRIF) (9) (Fig. 2).

La señalización de la vía independiente a MyD88 abarca la siguiente secuencia:

1) La proteína acopladora TRIF recluta al complejo proteico TRAF6-TAK1- TAB2 que activa a las IKKs permitiendo la liberación de NF-κB.

2) A través de otra ruta, la molécula TRIF interactúa con el dímero TBK1/IKKε ocasionando la

translocación del factor nuclear IRF-3 (Factor regulador de IFN-3), provocando la síntesis de interferón tipo I (IFNα/β).

MODULADORES DE LAS VIAS ACTIVADAS POR LOS TLRs

La producción de citocinas proinflamatorias como TNF-α IL-6 o IL-1β se considera como un marcador de la activación de los TLRs; la producción exacerbada de estos mediadores inflamatorios origina serios desórdenes sistémicos en el hospedero que lo pueden llevar a presentar el síndrome de falla orgánica múltiple e incluso la muerte, cabe mencionar que esta es la condición más común en pacientes críticos en las unidades de terapia intensiva a nivel mundial.

A pesar del conocimiento en la diversidad de ligandos que activan los TLR´s, la señalización inducida por LPS es el modelo que explica a esta familia de receptores.

El LPS induce la expresión de diversos moduladores, entre los más conocidos se encuentran: MyD88s, IRAK-M, ST2, SIGIRR y SOCS1 (13) (Fig. 3).

La molécula MyD88s es el producto de un empalme alternativo que elimina al exón 2 que corresponde al dominio intermedio de MyD88, la ausencia de éste dominio en MyD88s impide que IRAK-4 sea reclutado, bloqueando la activación de NF-κB (14).

La familia de cinasas IRAK cumplen una importante actividad en la transducción de la señal de los TLRs, sin embargo, uno de sus integrantes conocido como IRAK-M, no posee actividad enzimática (15). Esta molécula interfiere con la disociación entre IRAK4/IRAK-1 con MyD88, impidiendo la posterior interacción de IRAK-1 con TRAF6.

Las proteínas transmembranales ST2 y SIGIRR pertenecen a las superfamilia de proteínas que presentan un dominio tipo TIR; ambas estructuras se consideran receptores huérfanos que interfieren en la señalización que activa a NF-κB (13). El mecanismo por el cual ST2 bloquea la activación de los TLRs es secuestrando a los adaptadores MyD88 y TIRAP a través de su dominio TIR y la estrategia utilizada por SIGIRR es desconocida, sólo se

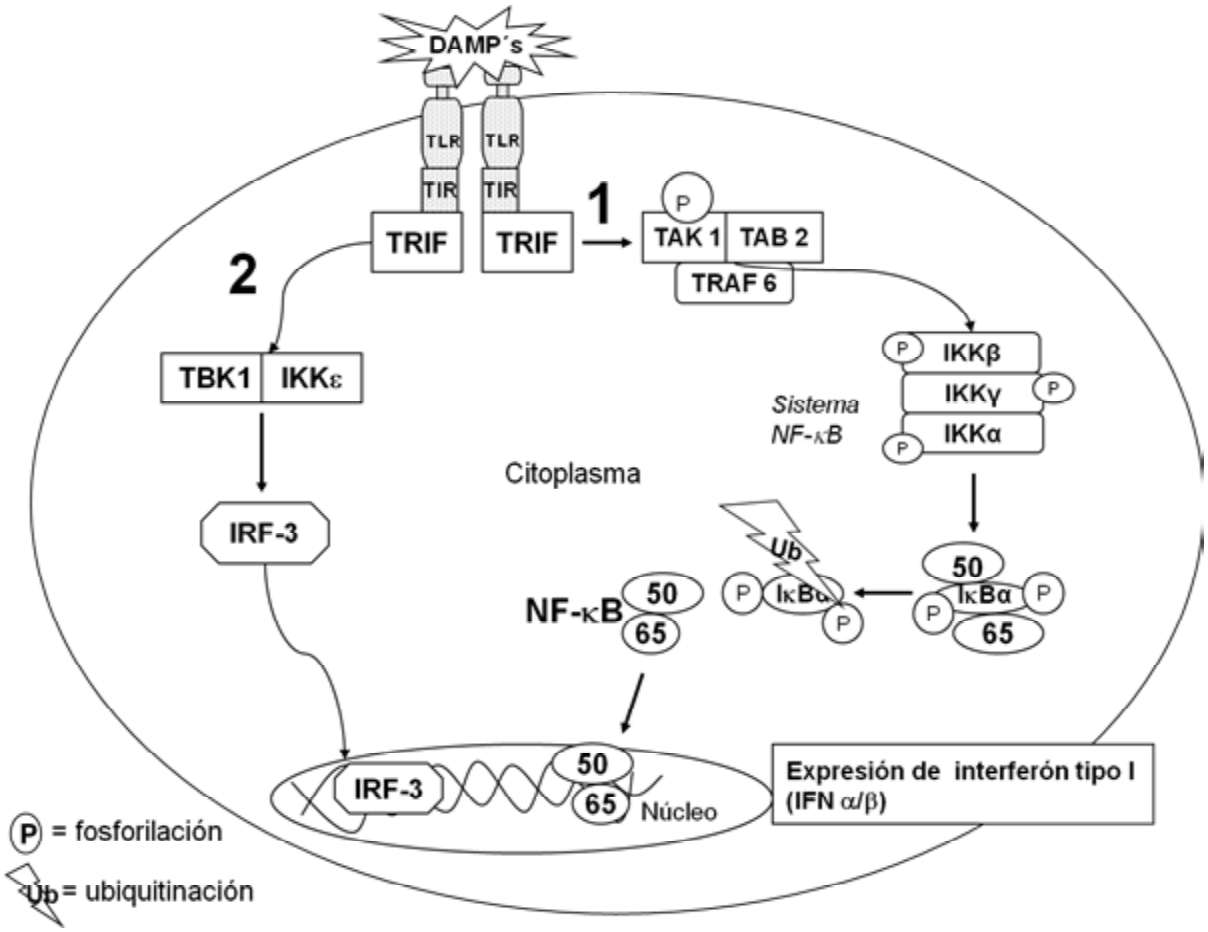

Figura 2. *Activación de la vía de receptores tipo Toll independiente de la proteína acopladora MyD88 y dependiente de la proteína adaptadora TRIF que conduce a la expresión de la familia de interferón tipo 1. Figura modificada de Ref. 9.*

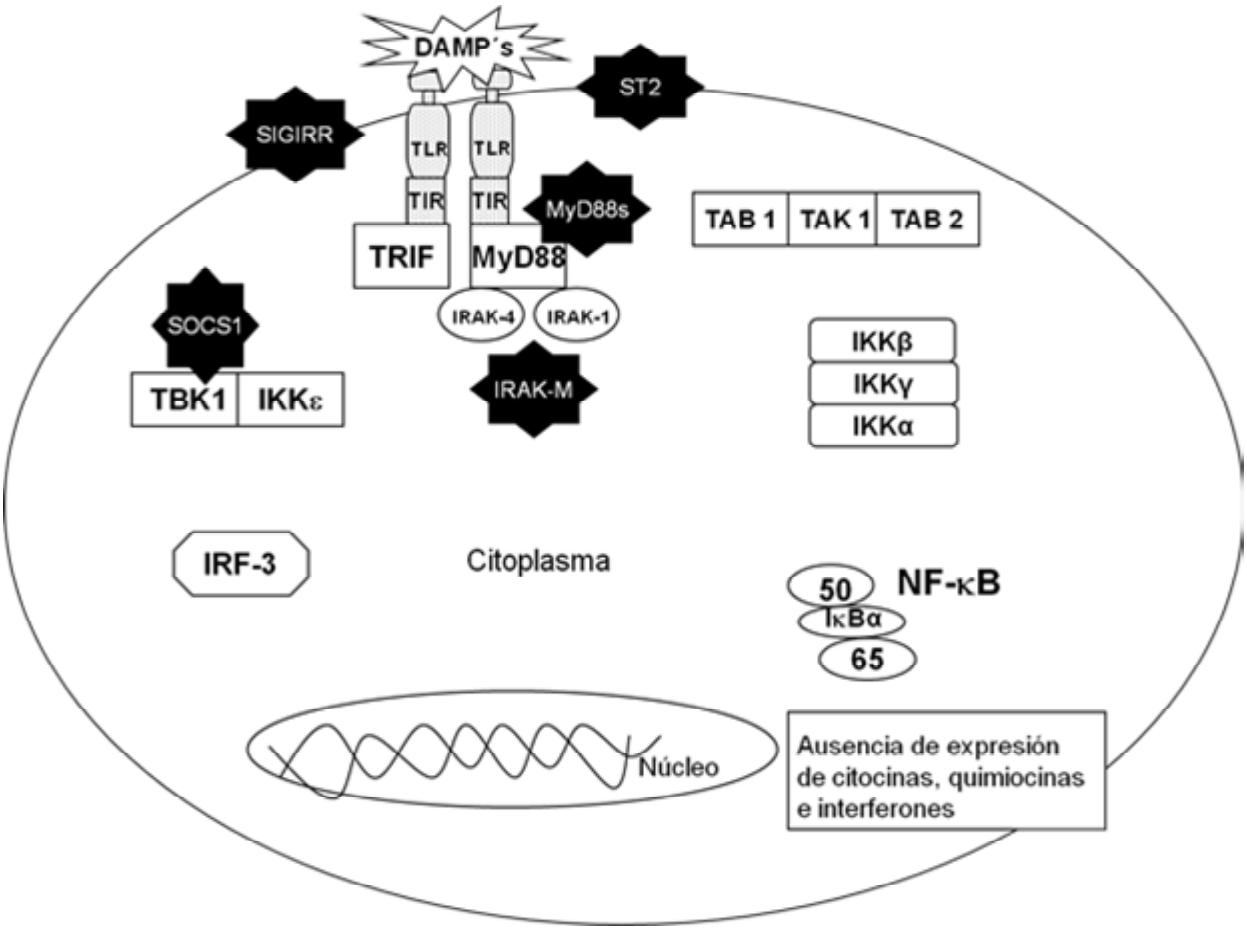

Figura 3. *Moduladores negativos de las vías activadas por los TLRs, las estrellas negras representan diferentes tipos de moduladores de la vía. MyD88s: forma truncada de MyD88; IRAK-M: miembro de familia IRAK que carece de actividad enzimática; ST2 y SIGIRR: receptores transmembranales huérfanos; SOCS1: supresor tipo 1 de la señalización de citocinas.*

sabe que interactúa con TLR4, IRAK y TRAF6.

La molécula SOCS-1 (supresor de la señalización de citocinas 1) pertenece a un grupo de proteínas involucrado en la regulación negativa de las vías de transducción de citocinas, en particular la activación de la vía de interferón tipo I (15).

PERSPECTIVAS

La inflamación, proceso generado por la inmunidad innata, representa en mamíferos la primera línea de defensa en respuesta a diversos tipos de agresión. A través de los TLR's, este sistema protector detecta rápidamente DAMPs que reflejan la existencia de algún tipo de daño o la presencia de microorganismos patógenos en el hospedero; la activación de esta familia de receptores conduce a la expresión de los mediadores pro- y anti-inflamatorios que ayuden a combatir la lesión o la infección enfrentada por el individuo.

La inflamación es una respuesta benéfica, sin embargo, cuando se alteran sus mecanismos de control, se puede convertir en una patología en forma de una inflamación aguda exacerbada como el choque séptico o una inflamación crónica como la artritis reumatoide. Aún es desconocido si la inflamación aguda está relacionada a una ausencia de reguladores de las vías activadas por los TLRs o si su producción prolongada provoque una inflamación crónica.

Estudios enfocados a resolver estas preguntas, brindarán información relevante que servirá para generar nuevos fármacos específicos que puedan bloquear las vías que mantienen estas respuestas inflamatorias anormales sin generar graves efectos secundarios en el individuo.

REFERENCIAS

1. Kawai T, Akira S (2007) TLR signaling. Semin Immunol 19(1):24-32.

2. Bianchi M E (2007) DAMPs, PAMPs and alarmins: All we need to know about danger. J Leukoc Biol 81(1): 1-5.

3. O'Neill L A J (2004) TLRs: Professor Mechnikov, sit on your hat. Trends Immunol 25(12): 687-693.

4. Karin M (1998) The NF- B activation pathway: Its regulation and role in inflammation and cell survival. Cancer J Sci Am 4(SUPPL. 1).

5. O'Neill L A J (2008) The interleukin-1 receptor/Toll-like receptor superfamily: 10 years of progress. Immunol Rev 226:10-18.

6. Takeda K, Akira S (2005) Toll-like receptors in innate immunity. Int Immunol 17(1):1-14.

7. Krieg A M (2007) TLR9 and DNA 'feel' RAGE. Nat Immunol 8(5):475-477.

8. Akashi-Takamura S, Miyake K (2008) TLR accessory molecules. Curr Opin Immunol 20(4):420-425.

9. Li X X, Qin J Z (2005) Modulation of Toll-interleukin 1 receptor mediated signaling. J Mol Med 83(4):258-266.

10. Foster S L, Medzhitov R (2009) Gene-specific control of the TLR-induced inflammatory response. Clin Immunol 130(1):7-15.

11. Horng T, Barton G M, Flavell R A, Medzhitov R. (2002) The adaptor molecule TIRAP provides signalling specificity for Toll-like receptors. Nature 420 (6913): 329-333.

12. Jefferies C A, Doyle S, Brunner C, Dunne A, Brint E, Wietek C,Walch E, Wirth T, O'Neill L A J (2003) Bruton's tyrosine kinase is a toll/interleukin- 1 receptor domain-binding protein that participates in nuclear factor kappa B activation by toll-like receptor 4. J Biol Chem 278(28): 26258-26264.

13. Liew F Y, Xu D M, Brint E K and O'Neill L A J (2005) Negative regulation of Toll-like receptor-mediated immune responses. Nat Rev Immunol 5(6):446-458.

14. Janssens S, Burns K, Vercammen E, Tschopp J, Beyaert R (2003) MyD88(S), a splice variant of MyD88, differentially modulates NF-kappa B- and AP-1-dependent gene expression. FEBS Lett 548(1-3):103-107.

15. Kobayashi K S, Flavell R A (2004) Shielding the double-edged sword Negative regulation of the innate immune system. J Leukoc Biol 75(3):428-433.