

Los receptores tipo Toll en la respuesta pulmonar a patógenos

Bruno Rivas-Santiago,* Esmeralda Juárez**

* Unidad de Investigación Médica-Zacatecas, IMSS. Departamento de Patología Experimental, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

** Departamento de Investigación en Microbiología, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

Toll-like receptor in lung response to pathogens

ABSTRACT

Innate immunity plays a central role in antimicrobial defense. Advances in the understanding of pathogen recognition systems of innate cells have yielded the identification of Toll like receptors (TLR) as key elements of the lung defense mechanisms which is heavily exposed to a variety of stimuli. TLR recognition of several microbial compounds induces proinflammatory cytokines production whose contribution to the host may be either protective or detrimental. Human immune response diversity may explain the differences observed between patients facing bacterial, viral and fungal lung infections. New strategies designs that modify innate immune response may be useful to limit detrimental consequences of inflammatory processes in the lung.

Key words. Innate immunity. Toll-like receptor. Lung defense.

INTRODUCCIÓN

El pulmón es la superficie más grande del cuerpo junto con el tracto gastrointestinal, con aproximadamente 100 m² está continuamente expuesto a muchos tipos de microorganismos; sin embargo, rara vez se produce enfermedad, esto se debe a que la respuesta inmune innata del pulmón es altamente eficiente.¹ Las patologías más comunes son síndrome de estrés respiratorio agudo (SERA), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis quística o neumonías infecciosas de origen bacteriano, viral o fúngico. El desarrollo de la defensa innata es indispensable para evitar el establecimiento de la enfermedad,² pero una respuesta exacerbada podría ge-

RESUMEN

La inmunidad innata cumple una función central en la defensa antimicrobiana. Los avances en el conocimiento de los sistemas mediante los cuales las células de la respuesta innata realizan el reconocimiento de los patógenos han permitido identificar, como parte de los mecanismos de defensa de un órgano tan expuesto a una variedad de estímulos como el pulmón, a los receptores tipo Toll (TLR). La respuesta de los TLR al reconocimiento de distintos componentes microbianos induce la producción de citocinas proinflamatorias que pueden tener una función protectora o en detrimento del hospedero. La diversidad de la respuesta inmune humana podría explicar las diferencias en la respuesta que algunos pacientes muestran a las infecciones bacterianas, virales y fúngicas en el pulmón. El diseño de nuevas estrategias para modificar la respuesta inmune innata podría ser muy útil para limitar las consecuencias adversas de los procesos pulmonares inflamatorios.

Palabras clave. Inmunidad innata. Receptores tipo Toll. Defensa pulmonar.

nerar un estado patológico inflamatorio. El epitelio es una fuente de mediadores inflamatorios que afectan la respuesta inmune local,³ pero son los macrófagos del pulmón los responsables de realizar la fagocitosis, funciones reguladoras mediante la producción de mediadores solubles, iniciar o prolongar respuestas inflamatorias e incluso podrían desempeñar un papel en la patogénesis de ciertas enfermedades cuando liberan enzimas líticas o radicales libres al medio.⁴

INMUNIDAD INNATA

El sistema inmune se ha dividido tradicionalmente en dos: el innato y el adaptativo, ambos con fun-

ciones específicas y diferentes. La inmunidad innata es la primera línea de defensa contra los microorganismos, se caracteriza por no ser clonal, actúa sobre una cantidad muy amplia de patógenos y está siempre presente. A los pocos minutos de la invasión del hospedero por un microorganismo patógeno, el sistema inmune innato se activa y coordina la defensa durante el tiempo inicial de la infección.

La parte adaptativa generalmente involucra la respuesta de dos clases especializadas de células, los linfocitos T y los B. El desarrollo de la respuesta inmune celular, bien conocida como la responsable de erradicar cualquier patógeno que ingrese en el organismo, requiere de la generación de un repertorio de receptores específicos en las células T y B como respuesta a la presentación de antígeno por células profesionales y de la liberación de mediadores solubles. La expansión clonal de los linfocitos en respuesta a la infección es absolutamente necesaria para la generación de una respuesta inmune eficiente. Sin embargo se requieren de tres a cinco días para tener la cantidad suficiente de clones que sean efectoras, esto le concede tiempo al patógeno para causar daño.

En contraste, la inmunidad innata comprende mecanismos que reaccionan de inmediato a la invasión por patógenos impidiendo su replicación, tales como: péptidos antimicrobianos y la vía alterna del complemento.

Debido a que el sistema innato es muy eficiente en la defensa contra la inmensa mayoría de los patógenos, por mucho tiempo se pensó que era no-específico y no-selectivo. La especificidad sólo se asociaba a la activación de la inmunidad adquirida; sin embargo, este concepto se ha modificado en la medida que los receptores que intervienen en la respuesta innata se han ido describiendo.

La principal diferencia entre la inmunidad innata y la adaptativa son los mecanismos y receptores involucrados en el reconocimiento del patógeno. Las células de la inmunidad adaptativa tienen un receptor único y altamente específico generado por mecanismos de recombinación genética aleatoria. Cada célula tiene una especificidad, esto es, reconoce un solo patógeno. Como estos receptores se generan al azar, pueden reconocer antígenos de cualquier origen posible, incluidos los ambientales inofensivos y los propios.

La estrategia de la inmunidad innata, en cambio, consiste no en reconocer cada posible antígeno, sino en enfocarse en unas pocas estructuras altamente conservadas en una gran variedad de microorganismos exclusivamente.¹

LOS TLR EN LA RESPUESTA INMUNE

Los receptores tipo Toll (Toll-like Receptors [TLR]) en mamíferos derivan su nombre de una proteína denominada Toll encontrada inicialmente en *Drosophila melanogaster*, los cuales tienen alta similitud en su secuencia. Los receptores Toll se descubrieron durante el estudio del desarrollo de los embriones de mosca.⁵ La generación de moscas con mutaciones en el receptor Toll dio lugar a la hipótesis de que estos receptores transmembranales también eran un componente crítico para la respuesta inmune contra hongos, ya que las moscas que carecían de éste eran incapaces de controlar infecciones fúngicas.⁶ Años más tarde se descubrió la gran homología de los receptores Toll de *Drosophila* con ciertos receptores en humanos. Estudios detallados describieron que la estimulación de estos receptores en monocitos humanos daba como resultado la activación del factor nuclear de transcripción κ B (NF- κ B), con la consecuente transcripción de varios genes de respuesta inmune.⁷ Estas proteínas en el humano fueron nombradas como TLR.

Desde el descubrimiento de Toll en *Drosophila melanogaster* y su importancia en la defensa antimicrobiana de la mosca a la fecha, se han descrito 11 tipos de TLR en mamíferos y se han descrito moléculas agonistas para la mayoría de ellos⁸ (Figura 1). Éstos son proteínas con un dominio extracelular que reconoce patrones moleculares altamente conservados y distribuidos entre los diferentes tipos de microorganismos. La estructura intracelular llamada Dominio homólogo Toll/Receptor de IL-1 (TIR, por sus siglas en inglés) es indispensable para la transducción de la señal. Cada TLR activa vías de señalización similares, la inducción diferencial de la señal depende de moléculas adaptadoras citoplásmicas, tales como MyD88, TIRAP, TRIF y TRAM que se asocian con la región intracitoplásmica de los TLR para llevar la señal hasta el núcleo con la subsecuente activación de genes de la respuesta inflamatoria y la producción de citocinas y moléculas antimicrobianas, mecanismos tan ancestrales que están presentes en peces, anfibios y mamíferos.^{9,10} MyD88 se asocia con casi todos los TLR excepto el TLR3 y se requiere para la inducción de citocinas proinflamatorias. Los TLR3 y TLR4 son capaces de señalizar de manera independiente de MyD88 en un proceso ligeramente retrasado respecto a los mecanismos dependientes de MyD88 e incapaz de inducir la expresión de genes proinflamatorios, pero suficiente para activar genes para la maduración de las células dendríticas y la producción de los interferones tipo I. Los

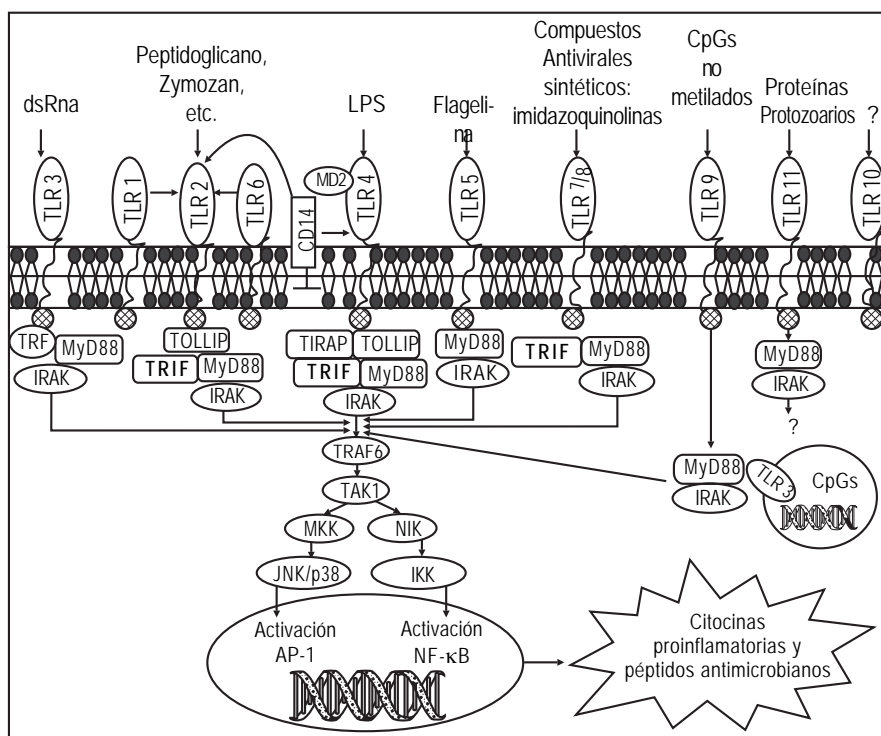


Figura 1. Los diferentes tipos de receptores tipo Toll en el humano, moléculas adaptadoras y sus respectivos ligandos. Después de la unión del ligando al receptor se presenta una cascada de señalizaciones modulada por las moléculas adaptadoras de la familia TIR tales como MyD88, TRIF y TRAF y varias cinasas que darán como resultado la activación de factores nucleares como el NF- κ B y AP-1, los cuales se translocan al núcleo para la transcripción de genes tanto de citocinas como de péptidos antimicrobianos que modulan la respuesta inmune innata y establecen un puente con la respuesta inmune adaptativa.

TLR7 y TLR9 pueden inducir no sólo interferones tipo I sino también citocinas proinflamatorias de manera dependiente de MyD88 y no requieren de otros adaptadores relacionados a MyD88.¹¹

Finalmente todos reconocen la infección y disparan múltiples respuestas proinflamatorias y antimicrobianas, dentro de las cuales se encuentran:

1. Inducción de la expresión de quimiocinas y sus receptores que regulan la migración celular hacia los sitios de inflamación.¹²
2. Activación de neutrófilos, eosinófilos y células cebadas, células epiteliales, así como monocitos y macrófagos.¹³
3. Activación de células dendríticas para su diferenciación y al mismo tiempo la inducción de respuestas tipo Th1 o Th2 dependiendo del TLR que haya sido estimulado.^{14,15}
4. Activación policlonal de las células B de memoria y la producción de IgM de baja afinidad que genera una respuesta rápida a la reinfección.¹⁶ Así como el cambio de isotipo para anticuerpos de la clase IgG.¹⁷
5. Inducción de la producción de péptidos antimicrobianos.^{18,19}
6. Inducción de apoptosis en macrófagos²⁰ y retraso del proceso apoptótico en neutrófilos.²¹

7. Inducción de mecanismos bactericidas del macrófago dependientes e independientes del óxido nítrico.^{22,23}

Dependiendo del TLR que se active es el patrón de citocinas/genes que se encienden, por ejemplo, los macrófagos murinos producen IL-12, IFN- γ y MCP-5 en respuesta a la estimulación por el TLR4, pero estos mediadores no se producen si el que se activa es el TLR2.²⁴

LOS TLR EN LA RESPUESTA INMUNE INNATA DEL PULMÓN

Una vez que los microorganismos entran al pulmón las primeras células que encuentra son las células epiteliales, las cuales tienen la capacidad de producir moléculas efectoras de la respuesta inmune como son interleucinas, péptidos antimicrobianos, proteínas surfactantes, colectinas y C3b. Normalmente, los macrófagos alveolares conforman el 95% de todos los leucocitos del espacio alveolar, 4% lo forman los linfocitos y 1% los neutrófilos. Estos leucocitos aparte de su función fagocítica tienen la capacidad de producir moléculas proinflamatorias, como interleucina-12, Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF α), Interferón- γ , los cuales desencadenan una respuesta inmune más especializada.¹ La mayoría de las funciones inmuno-

lógicas tanto de las células epiteliales como de los leucocitos está mediada por los TLR.

En tejido pulmonar se ha descrito la presencia del mRNA o la proteína de TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, TLR9 y TLR10,^{25,26} estos datos se encuentran resumidos en el cuadro 1. La función específica que cada uno desempeña en los procesos infecciosos o reguladores del pulmón aún se investiga. Podemos, sin embargo, identificar la participación de los TLR en dos tipos de procesos pulmonares, los no infecciosos y los infecciosos (Figura 2).

Cuadro 1. Receptores tipo Toll y sus ligandos.

Receptor	Ligando	Especie
TLR1	Lipopéptidos bacterianos	H, R
TLR2*	Lipopéptidos, ácido teitoico, péptidoglicano	H, R
TLR3	RNA de doble cadena	H, R
TLR4	LPS	H, R
TLR5**	Flagelina	H, R
TLR6	Zymosan, lipopéptidos	H, R
TLR7**	RNA viral de una cadena, imiquimod	H, R
TLR8**	RNA viral de una cadena, imiquimod	H, R
TLR9**	Complejos CpG no metilados	H, R
TLR10	Se desconoce	H
TLR11	Proteínas protozoarios	R
TLR12, TLR- 13	Se desconoce	R

H: Hombre. R: Ratón.

* El TLR2 coopera con el TLR1 y el TLR6 para reconocer ácido lipoteicoico, zymosan y otros ligandos.

** El TLR5, el TLR7, el TLR8, y el TLR9 cooperan para reconocer complejos CpG no metilados, RNA de una sola cadena y flagelina.

Los TLR en procesos no infecciosos

El macrófago alveolar puede reconocer por la vía de los TLR, tanto de manera directa como indirecta, moléculas que se producen en circunstancia de daño tisular y que funcionan como señal de peligro. Moléculas como el fibrinógeno y la proteína A del surfactante son reconocidas a través del TLR4, quien desencadena mecanismos proinflamatorios en respuesta al reconocimiento de las mismas.^{27,28} Además, el TLR4 reconoce algunos antígenos endógenos liberados en estado de estrés, particularmente cuando ocurre hemorragia pulmonar, donde induce principalmente la producción de TNF- α .²⁹ Por otro lado, el ATP extracelular, que se libera al medio en casos de daño tisular y que es reconocido por receptores purinérgicos, tiene la capacidad de modular los niveles de expresión de los TLR y su señalización que conduce a la producción de citocinas proinflamatorias potenciando la respuesta inmune local.^{30,31}

En enfermedades como enfermedad obstructiva crónica pulmonar (EPOC) y tabaquismo, relacionadas con la inhalación de partículas, se ha reportado una deficiencia o inhibición del TLR2, lo que condiciona a estos pacientes a tener limitada su capacidad de responder a infecciones por bacterias Gram positivas y, por otro lado, tienen una sobre expresión del TLR4 que, a causa del humo del cigarro, mantiene a las células locales en estado constante de activación generando inflamación crónica.³²⁻³⁴

La estimulación de los TLR en las vías aéreas de sujetos con padecimientos alérgicos determina el

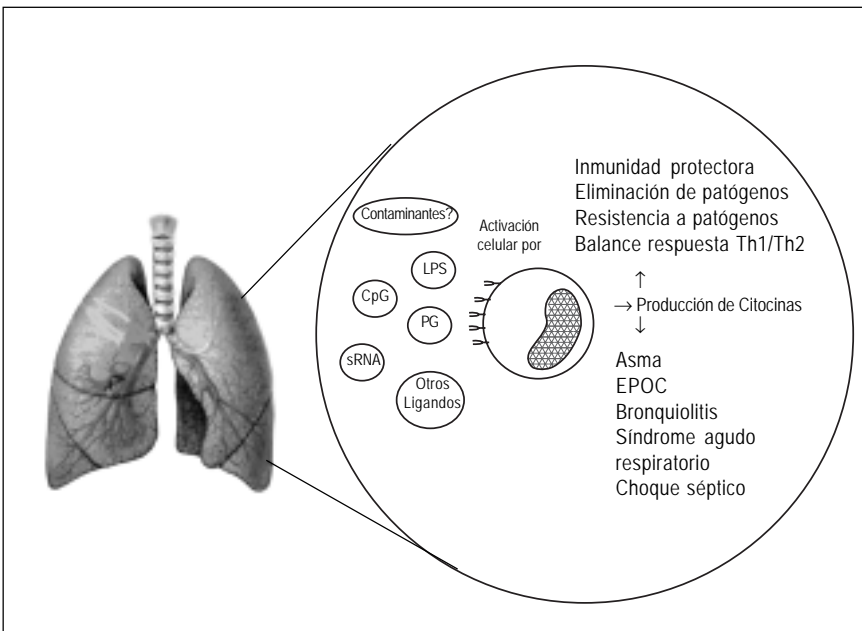


Figura 2. Los TLR participan tanto en los procesos infecciosos como en los no infecciosos del pulmón. La respuesta generada por el reconocimiento de sus ligandos es ambigua, por un lado se induce la producción de moléculas clave para la eliminación de microorganismos que además intervienen en mecanismos de inmunidad protectora y por otro puede ocasionar una respuesta inflamatoria exacerbada que es causa de enfermedad.

grado de severidad de la enfermedad, pues la presencia de LPS en los aerosoles del ambiente se asocia con una mayor reactividad en pacientes con asma y esta asociación es mayor que la de la concentración ambiental de *Dermatophagoides pteronyssinus* y *D. faringe*.³⁵ La dosis de LPS ambiental determina el tipo de respuesta inmune que se genera contra antígenos inhalados. Aunque el LPS generalmente induce la producción de citocinas tipo Th1 como IL-12 y TNF α , también impacta sobre el reclutamiento de células dendríticas, quienes condicionan un perfil Th1 cuando son estimuladas con dosis altas, mientras que ante dosis bajas de LPS responden con un perfil Th2.³⁶ Más recientemente se describió que este efecto se debe principalmente a la estimulación de las células cebadas por LPS a través del TLR4 y esta estimulación condiciona la inflamación alérgica,³⁷ con la desventaja adicional de que la histamina amplifica la respuesta del TLR2 y del TLR4 en células endoteliales.³⁸

Los TLR en procesos infecciosos

Las infecciones bacterianas y virales juegan un papel crucial en el desarrollo de enfermedades pulmonares, no sólo las causadas por el patógeno mismo, sino porque la exacerbación del proceso inflamatorio influye directamente en la patogénesis de asma, fibrosis quística, EPOC y otros.

El efecto biológico de la estimulación a través de los TLR es diverso. Existen casos en los que la respuesta es favorable al hospedero y a la eliminación del patógeno. Por ejemplo, los macrófagos alveolares murinos son responsables de la eliminación del virus sincicial respiratorio a través de un mecanismo dependiente del reconocimiento por el TLR4.³⁹ Los TLR1, TLR2, TLR4 y TLR6 juegan un papel central en la resistencia, la eliminación de la carga bacteriana, el reclutamiento de neutrófilos y producción de TNF- α e IL-6 en neumonía causada por *Klebsiella pneumoniae*.⁴⁰ El TLR4 induce apoptosis del macrófago murino en respuesta a la estimulación por la neumolisina de *S. pneumoniae* por un mecanismo dependiente de caspasa 3 de manera temprana y este efecto es protector, pues favorece la supervivencia del ratón.⁴¹ Los TLR2, TLR4 y dectina-1 reconocen las formas patogénicas de *Aspergillus fumigatus*, esto representa una ventaja para el hospedero porque el TLR2 y el TLR4 pueden distinguir entre las formas esporuladas de *Aspergillus* frecuentemente inhaladas (eliminando la posibilidad de un estado de inflamación constante) y las formas de hifas potencialmente infecciosas en macrófagos humanos y de

ratón.⁴² La bacteria gramnegativa *Legionella pneumophila* tiene la capacidad de replicarse dentro de los macrófagos alveolares y puede causar un tipo severo de neumonía; sin embargo, en la mayoría de los infectados, la respuesta inmune dependiente del TLR2 induce la producción de IL-12, IL-6 y TNF- α , que resulta protectora porque contribuye a la eliminación de la bacteria.⁴³

En ciertos padecimientos, como en la inflamación patológica asociada al virus de la influenza A, la participación de los TLR ocurre en detrimento del hospedero, pues este virus induce respuesta citotóxica exacerbada en un modelo murino en el que la muerte de los animales incrementa por mecanismos dependientes del TLR3.⁴⁴ También *Pseudomonas aeruginosa* estimula a las células epiteliales de vías respiratorias a través del TLR5 y del TLR2 generando una respuesta inflamatoria que podría exacerbar la fibrosis quística.^{45,46} La infección por bacterias grampositivas y negativas que condiciona la presencia sistémica de grandes cantidades de LPS ocasiona choque séptico, que puede ser letal, particularmente si la administración del LPS es por vía aérea pues se genera una hiperrespuesta dependiente del TLR4 en la que ocurre broncoconstricción, daño del epitelio alveolar y ruptura de la integridad capilar pulmonar que conduce a un daño pulmonar agudo.^{47,48} En otro tipo de infecciones el papel de los TLR aún no está establecido; sin embargo, sabemos que se genera una respuesta inflamatoria en respuesta a componentes bacterianos, como el DNA que se genera de los procesos de degradación de la respuesta pulmonar y cuyas implicaciones clínicas aún se desconocen.^{49,50}

Los TLR en tuberculosis

La principal vía de entrada de *Mycobacterium tuberculosis* es la aérea, siendo las células alveolares las primeras en entrar en contacto con *M. tuberculosis*. Por lo tanto, el reconocimiento inicial de los componentes micobacterianos en el pulmón recae en las células epiteliales del pulmón y los macrófagos alveolares.⁵¹ *M. tuberculosis* viable y algunos de los componentes de su pared celular son capaces de activar los macrófagos vía TLR, permitiendo la activación del factor de transcripción NF- κ B con la consecuente producción y liberación de citocinas proinflamatorias tales como TNF- α , IL-1, IL-12 e IL-18, la liberación de nitritos reactivos, diversas quimiocinas y péptidos antimicrobianos.⁵²⁻⁵⁵ A través de mecanismos de la respuesta innata como la fagocitosis, actividad bactericida y el balance de la res-

puesta inmune generado por los mecanismos de respuesta de los TLR, la intensidad de la respuesta inmune se modula y se dirige la transición de innata a adaptativa.¹⁶

Los TLR participan en la regulación y resistencia del hospedero a la infección por *M. tuberculosis*. El reconocimiento de antígenos micobacterianos, como el glicolípido de 38KDa, por el TLR4 induce la producción de un perfil protector de citocinas y óxido nítrico que ayudan a la eliminación de la bacteria,⁵⁶⁻⁵⁸ al control de la infección crónica y favorecen la supervivencia del ratón.^{59,60} Otros tipos de TLR también participan en el reconocimiento de antígenos de *M. tuberculosis* como el TLR2, que modula la respuesta inflamatoria,⁵⁶ además, el TLR6 coopera con el TLR2 en la transducción de señales dependiendo del tipo de antígeno que se genere en el medio y que sea reconocido,⁶¹ por lo que la especie antigénica también marca una diferencia en los mecanismos de activación de la respuesta celular.⁶² Recientemente se reportó que el TLR9 induce una respuesta inmune protectora en un modelo murino.⁶³ El hecho de que los ratones deficientes en MyD88 son incapaces de controlar la infección a pesar de su habilidad de montar una respuesta adaptativa, sugiere la participación central de los TLR en la resolución de esta infección.⁶⁴ MyD88 es una proteína adaptadora intracelular que transduce la señal de la mayoría de los TLR hasta la translocación nuclear del NF- κ B para la producción de citocinas y otras moléculas de la respuesta inmune, por lo que un amplio repertorio de estos receptores podría estar involucrado en el proceso. A pesar del conocimiento generado en los modelos murinos, todavía falta investigar la biología de los TLR en el proceso humano, se sabe que los mRNA de TLR2, TLR4 y TLR6 están incrementados en sangre total de pacientes con tuberculosis,⁶⁵ pero la respuesta local poco se ha estudiado.

PERSPECTIVAS

El estudio de la respuesta por TLR ha adquirido un papel relevante en los últimos años. Las implicaciones clínicas de estos descubrimientos apenas empiezan a identificarse. Debido al papel esencial de la inmunidad innata en la regulación de todos los aspectos de la inmunidad, es concebible que la disfunción de los componentes del sistema innato pueda contribuir a la enfermedad. Se han descrito mutaciones en el gen del TLR4 en humanos que reducen su capacidad de respuesta inflamatoria al reto por inhalación con LPS, esto los hace resistentes a padecimientos como SERA, asma y otros,^{66,67} subrayan-

do el hecho de que cuando la respuesta innata falla en su intento de eliminar la infección, la estimulación continua de los TLR causa inflamación patológica.

Las perspectivas terapéuticas existen con la condición de que sean puntualmente dirigidas. El tratamiento con CpG DNA bloquea la expresión de citocinas tipo Th2 posterior al reto en un modelo animal de asma alérgica;⁶⁸ algunos antígenos micobacterianos como el de 38KDa se proponen como candidatos para vacunas o adyuvantes porque inducen la producción de citocinas proinflamatorias dependiente del TLR2 y del TLR4⁵⁶ y en padecimientos donde la respuesta inflamatoria generada por el reconocimiento por los TLR de su ligando correspondiente recrudece la enfermedad, como la infección por *H. influenzae*⁶⁹ o fibrosis quística, conviene evaluar la posibilidad de bloquear dichos receptores.

Conocer los componentes microbianos que desencadenan la respuesta inflamatoria puede tener implicaciones en el desarrollo de agentes terapéuticos y el conocimiento de la defensa innata contra bacterias, la forma en que el sistema adaptativo establece una protección antimicrobiana de larga duración y algunos de los mecanismos involucrados en la generación de autoinmunidad también ofrecen la posibilidad de intervención profiláctica. Sin embargo, debido a que los diferentes tipos de TLR comparten vías de señalización intracelular, es necesario profundizar en el conocimiento de los mecanismos que permitan inhibir selectivamente un tipo de TLR sin afectar la función de los otros.

REFERENCIAS

1. Martin TR, Frevert CW. Innate immunity in the lungs. *Proc Am Thorac Soc* 2005; 2: 403-11.
2. Schurr JR, Young E, Byrne P, Steele C, Shellito JE, Kolls JK. Central role of toll-like receptor 4 signalling host defense in experimental pneumonia caused by gram-negative bacteria. *Infect Immun* 2005; 73(1): 532-45.
3. Parilla NW, Hughes VS, Lierl KM, Wong HR, Page K. CpG DNA modulates interleukin 1 β -induced expression in human bronchial epithelial (16HBE14o-) cells. *Resp Res* 2006; 7: 84.
4. Brain JD. Mechanisms, measurement, significance of lung macrophage function. *Envir Health Perspectives* 1992; 97: 5-10.
5. Stein D, Roth S, Vogelsang E, Nusslein-Volhard C. The polarity of dorsoventral axis in the drosophila embryo is defined by an extracellular signal. *Cell* 1991; 65: 725-35.
6. Lemaitre B, Nicolas E, Mischeaut L, Reichart JM, Hoffmann JA. The dorsoventral gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in Drosophila adults. *Cell* 1996; 86: 973-83.
7. Medzhitov R, Preston-Hulburt P, Janeway CA Jr. A human homologue of the drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997; 388: 394-7.

8. Roach JC, Glusman G, Rowen L, Kaur A, Purcell MK, Smith KD, et al. The evolution of vertebrate toll-like receptors. *Proc Natl Acad Sci* 2005; 102: 9577-82.
9. Ritter M, Mennerich D, Weith A, Seither P. Characterization of toll-like receptors in primary lung epithelial cells: strong impact of the TLR3 ligand poly (I:C) on the regulation of Toll-like receptors, adaptor proteins and inflammatory response. *J Inflammation* 2005; 2:16.
10. Purcell MK, Smith KD, Hood L, Winton JR, Roach JC. Conservation of toll-like receptor signaling pathways in teleost fish. *Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics* 2006; 1: 77-88.
11. Kaisho T, Akira S. Toll-like receptor function and signaling. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 979-87.
12. Yamada H, Odonnell MA, Matsumoto T, Luo Y. Interferon γ up-regulates toll-like receptor 4 and cooperates with lipopolysaccharide to produce macrophage derived chemokine and interferon- γ inducible protein 10 in human bladder cancer cell line RT4. *J Urol* 2005; 174: 1119-23.
13. Power CP, Wang JH, Manning B, Kell MR, Aherne NF, Wu QD, Redmond HP. Bacterial lipoprotein delays apoptosis in human neutrophils through inhibition of caspase-3 activity: regulatory roles for CD14 and TLR-2. *J Immunol* 2005 173: 5229-37.
14. Visintin A, Mazzoni A, Spitzer JH, Wyllie DH, Dower SK, Segal DM. Regulation of toll-like receptors in human monocytes and dendritic cells. *J Immunol* 2001; 166: 249-55.
15. Krug A, Towarowski A, Britsch S, Rothenfusser S, Hornung V, Bals R, et al. Toll-like receptor expression reveals CpG DNA as unique microbial stimulus for plasmacytoid dendritic cells which synergizes with CD40 ligand to induce high amounts of IL-12. *Eur J Immunol* 2001; 31: 3026-37.
16. Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol* 2004; 5: 987-95.
17. He B, Qiao X, Cerutti A. CpG DNA induces IgG class switch DNA recombination by activating human B cells through an innate pathway that requires TLR9 and cooperates with IL-10. *J Immunol* 2004; 173: 4479-91.
18. MacRedmond R, Greene C, Taggart CC, McElvaney N, O'Neill S. Respiratory epithelial cells requires toll-like receptor 4 for induction of human β -defensin 2 by lipopolysaccharide. *Resp Res* 2005; 6: 116.
19. Hertz CJ, Wu Q, Porter EM, Zhan YJ, Weismuller KH, Godowski PJ, et al. Activation of toll-like receptor 2 on human tracheobronchial epithelial cells induces the antimicrobial peptide human β defensin-2. *J Immunol* 2003; 171: 6820-6.
20. Haase R, Kirsching CJ, Sing A, Schrottner P, Fukase K, Kusumoto S, et al. A dominant role of toll-like receptor 4 in the signaling of apoptosis in bacteria-faced macrophages. *J Immunol* 2003; 171: 4294-303.
21. Power CP, Wang JH, Manning B, Kell MR, Aherne NF, Wu QD, Redmond HP. Bacterial lipoprotein delays apoptosis in human neutrophils through inhibition of caspase-3 activity: regulatory roles for CD14 and TLR-2. *J Immunol* 2003; 173: 5229-37.
22. Thoma-Uszynski S, Stenger S, Takeuchi O. Induction of direct antimicrobial activity through mammalian toll-like receptors. *Science* 2001; 291: 1544.
23. Wieland CW, Knapp S, Florquin S, de Vos AF, Takeda K, Akira S, et al. Non-mannose-capped lipoarabinomannan induces lung inflammation via toll-like receptor 2. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 1367-74.
24. Hirschfeld M, Weis JJ, Toshchakov V, Salkowski CA, Cody MJ, Ward DC, et al. Signaling by toll-like receptor 2 and 4 agonists results in differential gene expression in murine macrophages. *Infect Immun* 2001; 69: 1477-82.
25. Nishimura M, Naito S. Tissue-specific mRNA expression profiles of human toll-like receptors and related genes. *Biol Pharm Bull* 2005; 28: 886-92.
26. Droeman D, Goldman T, Branscheid D, Clark R, Dalhoff K, Zabel P, Vollmer E. Toll-like receptor 2 is expressed by alveolar epithelial cells type II and macrophages in the human lung. *Histochem Cell Biol* 2003; 119: 103-8.
27. Guillot L, Balloy V, McCormack FX, Golenbock DT, Chignard M, Si-Tahar M. The immunostimulatory activity of the lung surfactant protein A involves Toll-like receptor 4. *J Immunol* 2002; 168: 5989-92.
28. Smiley ST, King JA, Hancock WW. Fibrinogen stimulates macrophage chemokine secretion through toll-like receptor 4. *J Immunol* 2001; 167: 2887-94.
29. Barness KA, Arcaroli J, Harken AH, Abraham E, Banerjee A, Reznikov L, McIntyre. Hemorrhage-induced acute lung injury is TLR4 dependent. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 287: 592-9.
30. Kaufmann A, Musset B, Limberg SH, Renigunta V, Sus R, Dalpke AH, et al. "Host tissue damage" signal ATP promotes non-directional migration and negatively regulates toll-like receptor signaling in human monocytes. *J Biol Chem* 2005; 280: 32459-67.
31. Hanley PJ, Musset B, Renigunta V, Limberg SH, Dalpke AH, Sus R, et al. Extracellular ATP induces oscillations of intracellular Ca^{2+} and membrane potential and promotes transcription of IL6 in macrophages. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101: 9479-84.
32. Pons J, Saulea J, Regueiro V, Santos C, López M, Ferrer J, et al. Expression of Toll-like receptor 2 is up-regulated in monocytes from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Resp Res* 2006; 7: 64.
33. Droemann D, Goldmann T, Tiedje T, Zabel P, Dalhoff K, Schaaf B. Toll-like receptor expression is decreased on alveolar macrophages in cigarette smokers and COPD patients. *Resp Res* 2006; 6: 68.
34. Karimi K, Sarir H, Mortaz E, Smit JJ, Hosseini H, De Kimpe SJ, et al. Toll-like receptor 4 mediates cigarette smoke-induced cytokine production by human macrophages. *Resp Res* 2006; 7: 66.
35. Michel O, Kips J, Duchateau J, Vertongue F, Robert L, Collet H, et al. Severity of asthma is related to endotoxin in house dust. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1641-6.
36. Eisenbarth SC, Piggott DA, Huleatt JW, Visitin I, Herrick CA, Bottomly K. Lipopolysaccharide-enhanced, toll-like receptor 4-dependent T helper Cell type 2 responses to inhaled antigen. *J Exp Med* 2002; 196: 1645-51.
37. Nigo YI, Yamashita M, Hirahara K, Shinnakasu R, Inami M, Kimura M, et al. Regulation of allergic airway inflammation through toll-like receptor 4-mediated modification of mast cell function. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103: 2286-91.
38. Talreja J, Kabir MH, Filla MB, Stechschulte DJ, Dileepan KN. Histamine induces toll-like receptor 2 and 4 expression in endothelial cells and enhances sensitivity to gram-positive and gram-negative bacterial cell wall components. *Immunology* 2004; 113: 224-33.
39. Basu S, Fenton MJ. Toll-like receptors: function and roles in lung disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286: 887-92.
40. Jeyaseelan S, Young SK, Yamamoto M, Arndt PG, Akira S, Kolls JK, Worthen GS. Toll/IL1R domain-containing adaptor protein (TIRAP) is a critical mediator of antibacterial defense in the lung against *Klebsiella pneumoniae* but not *Pseudomonas aeruginosa*. *J Immunol* 2006; 177: 538-47.
41. Srivastava A, Henneke P, Visitin A, Morse SC, Martin V, Watkins C, et al. The apoptotic response to pneumolysin is toll-like receptor 4 dependent and protects against pneumococcal disease. *Infect Immun* 2005; 73: 6479-87.

42. Gersuk GM, Underhill DM, Zhu L, Marr KA. Dectin-1 and TLRs permit macrophages to distinguish between different *Aspergillus fumigatus* cellular states. *J Immunol* 2006; 176: 3717-24.
43. Archer KA, Roy CR. MyD88-dependent responses involving toll-like receptor 2 are important for protection and clearance of *Legionella pneumophila* in a mouse model of legionnaires's disease. *Infect Immun* 2006; 74: 3325-33.
44. Le Goffic R, Balloy V, Lagranderie M, Alexopoulou L, Escriou N, Flavell R, et al. Detrimental contribution of the toll-like receptor (TLR)3 to influenza A virus-induced acute pneumonia. *PLoS Pathogens* 2006; 2: 53.
45. Adamo R, Sokol S, Soong G, Gomez MI, Prince A. *Pseudomonas aeruginosa* flagella activate airway epithelial cells through asialoGM1 and toll-like receptor 2 as well as toll-like receptor 5. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 30: 627-34.
46. Powers MR, Peng Y, Maydanski E, Marshall JS, Lin TJ. The development of early host response to *Pseudomonas aeruginosa* lung infection is critically dependent on myeloid differentiation factor 88 in mice. *J Biol Chem* 2004; 279: 49315-22.
47. Togbe D, Schnyder-Candrian S, Schnyder B, Couillin I, Maillet I, Bihl F, et al. TLR4 gene dosage contributes to endotoxin-induced acute respiratory inflammation. *J Leukoc Biol* 2006; 80: 451-7.
48. Opal S, Huber CE. Bench to bedside review: Toll-like receptors and their role in septic shock. *Critical Care* 2002; 6: 125-36.
49. Delgado MA, Poschet JF, Deretic V. Nonclassical pathway of *Pseudomonas aeruginosa* DNA- induced interleukin 8 secretion in cystic fibrosis airway epithelial cells. *Infect Immun* 2006; 74: 2975-84.
50. Dalpke A, Frank J, Peter M, Heeg K. Activation of toll-like receptor 9 by DNA from different bacterial species. *Infect Immun* 2006; 72: 940-6.
51. Rivas-Santiago B, Vieyra-Reyes P, Araujo Z. Cell immunity response in human pulmonary tuberculosis. *Invest Clin* 2005; 46: 391-412.
52. Underhill DM, Ozinsky A, Smith KD, Aderem A. Toll-like receptor 2 mediates mycobacteria-induced proinflammatory signaling in macrophages. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 96: 14459-63.
53. Uehori J, Matsumoto M, Tsuji S. Simultaneous blocking of human toll-like receptors 2 and 4 suppresses myeloid dendritic cell activation induced by *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin peptidoglycan. *Infect Immun* 2003; 71: 4238-49.
54. Rivas-Santiago B, Schwander SK, Sarabia C, Diamond G, Klein-Patel ME, Hernandez-Pando R, et al. Human β -defensin 2 is expressed and associated with *Mycobacterium tuberculosis* during infection of human alveolar epithelial cells. *Infect Immun* 2005; 73(8): 4505-11.
55. Rivas-Santiago B, Sada E, Tsutsumi V, Aguilar-Leon D, Contreras JL, Hernandez-Pando R. β -Defensin gene expression during the course of experimental tuberculosis infection. *J Infect Dis* 2006; 194(5): 697-701.
56. Jung SB, Yang CS, Lee JS, Shin AR, Jung SS, Son JW, et al. The mycobacterial 38-kilodalton glycolipoprotein antigen activates the mitogen-activated protein kinase pathway and release of proinflammatory cytokines through toll-like receptors 2 and 4 in human monocytes. *Infect Immun* 2006; 74: 2686-96.
57. Branger J, Leemans JC, Florquin S, Weijer S, Speelman P, van der Poll T. Toll-like receptor 4 plays a protective role in pulmonary tuberculosis in mice. *Intr Immunol* 2004; 16: 509-16.
58. Means TK, Jones BW, Schromm AB, Shurtleff BA, Smith JA, Keane J, et al. Differential effects of a toll-like receptor antagonist on *Mycobacterium tuberculosis*-induced macrophage responses. *J Immunol* 2001; 166: 4074-82.
59. Abel B, Thieblemont N, Quesniaux VJF, Brown N, Mpagi J, Miyake K, et al. Toll-like receptor 4 expression is required to control chronic *Mycobacterium tuberculosis* infection in mice. *J Immunol* 2002; 169: 3155-62.
60. Quesniaux VJ, Nicolle DM, Torres D, Kremer L, Guérardel Y, Nigou J, et al. Toll-like receptor 2 (TLR)-dependent-positive and TLR2-independent-negative regulation of proinflammatory cytokines by mycobacterial lipomannans. *J Immunol* 2004; 172: 4425-34.
61. Bulut Y, Faure E, Thomas L. Cooperation of Toll-like receptor 2 and 6 for cellular activation by soluble tuberculosis factor and *Borrelia burgdorferi* outer surface protein A lipoprotein: role of toll interacting protein and IL1 receptor signaling molecules in toll-like receptor 2 signaling. *J Immunol* 2001; 167: 987-94.
62. Means TK, Wang S, Lien E, Golenbock DT, Fenton M. Human Toll-like receptors mediate cellular activation by *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol* 1999; 163: 3920-7.
63. Bafica A, Scanga CA, Feng CG, Leifer C, Cheever A, Sher A. TLR9 regulates Th1 responses and cooperates with TLR2 in mediating optimal resistance to *Mycobacterium tuberculosis*. *J Exp Med* 2005; 202: 1715-24.
64. Fremont CM, Yermeev V, Nicolle DM, Jacobs M, Quesniaux VF, Ryffel B. Fatal *Mycobacterium tuberculosis* infection despite adaptive immune response in the absence of MyD88. *J Clin Invest* 2004; 114: 1790-9.
65. Chang JS, Huggett JF, Dheda K, Kim LU, Zumla A, Rook GAW. *Mycobacterium tuberculosis* induces selective up-regulation of TLRs in the mononuclear leukocytes of patients with active pulmonary tuberculosis. *J Immunol* 2006; 176: 3010-8.
66. Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, Zuber J, Kline JN, Jones M, et al. TLR mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Gen* 2000; 25: 187-91.
67. Schwartz DA. Inhaled endotoxin, a risk for airway disease in some people. *Resp Physiol* 2001; 128: 47-55.
68. Hessel EM, Chu M, Lizzano JO, Chang B, Herman N, Kell SA, et al. Immunostimulatory oligonucleotides block allergic airway inflammation by inhibiting Th2 cell activation and IgE-mediated cytokine induction. *J Exp Med* 2005; 202: 1563-73.
69. Galdiero M, Galdiero M, Finamore E, Rossano F, Gambuzza M, Catania RM, et al. *Haemophilus influenzae* porin induces toll-like receptor 2-mediated cytokine production in human monocytes and mouse macrophages. *Infect Immun* 2004; 72: 1204-9.

Reimpresos:

M. en C. Esmeralda Juárez-Carvajal

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
Departamento de Investigación en Microbiología
Calzada de Tlalpan 4502,
Col. Sección XVI,
14080, México, D.F.
Correo electrónico: ejuarez@iner.gob.mx

Recibido el 8 de noviembre de 2006.

Aceptado el 19 de julio de 2007.