



RESUMEN

Análisis de la interacción entre el receptor tipo toll y el virus de dengue 2 en monocitos humanos

Autor: **KARLA MARIA HERNANDEZ ORTA**

Coautores: Dr. Hector Vivanco Cid; Dr. Alfonso Alexander Aguilera

Area de Investigación: Biomedicina

Institución: UNIVERSIDAD VERACRUZANA

Año Residencia: -----

Hospital: -----

Matricula/Numero Personal: 18382

Telefono Laboral: 229321707

Extension:

Telefono Particular: 2299392412

Telefono Celular: 2291137836

Email: aalexander_2000@yahoo.com

Email Alternativo:

Tipo de Autor: Estudiante de Pregrado

Dependencia: FACULTAD DE BIOANALISIS

Marco teórico:

El dengue es una enfermedad infecciosa sistémica cuyo agente causal es un arbovirus perteneciente a la familia flaviviridae. Actualmente constituye uno de los principales problemas de salud que afecta aproximadamente a 80 millones de personas alrededor del mundo ⁽¹⁾. En México, la enfermedad ha cobrado importancia debido al aumento de brotes epidémicos en las regiones del pacífico y del sureste del país, entre ellos Veracruz. La enfermedad es transmitida a humanos a través de la picadura del mosquito *Aedes aegypti*, que es el principal vector. La infección causa un espectro de manifestaciones que van desde sudoración, desarrollo de un cuadro febril, el cual de manera relevante se asocia con viremia, dolor de cabeza intenso, mialgias, artralgias, exantema, hasta cuadros tales como: fiebre hemorrágica por dengue o síndrome de choque por dengue, las cuales constituyen las complicaciones más severas.

Antecedentes:

En 1997, Janeway y col. describieron por primera vez la

presencia de un receptor similar a toll (*Toll like receptor* o *TLR*) sobre la superficie de las células del sistema inmune en humanos, denominado inicialmente toll humano, para posteriormente designarlo como *TLR4*. Los miembros que integran la familia de receptores toll son proteínas transmembranales tipo I que comparten la presencia de un motivo intracelular llamado *TIR*. Hasta el momento, hay una gran variedad de moléculas presentes en los patógenos que emplean algunos de los *TLRS* en mamíferos para favorecer la producción de citocinas proinflamatorias. Sin embargo, actualmente se estudia la participación de estos receptores en la infección por el virus del dengue entre otras enfermedades infecciosas.

Hipótesis:

El serotipo del virus del dengue 2 utilizará al receptor *TLR4* de monocitos humanos como uno de los mecanismos implicados en el establecimiento de la inmunopatología.

Objetivo general:

Investigar si existe interacción entre el receptor TLR4 de monocitos humanos con el virus del dengue 2 como uno de los mecanismos moleculares de la patogenicidad.

Metodología:

La estrategia metodológica que se siguió fue el bloqueo del receptor sobre una población celular de monocitos humanos, empleando un anticuerpo monoclonal antagonista y la posterior estimulación con el serotipo 2 del virus del dengue.

El análisis de la interacción entre el receptor tipo toll y el serotipo 2 del virus del dengue en monocitos humanos se realizó abordando la siguiente estrategia experimental: obtención de monocitos a partir de sangre periférica de humanos. Aislamiento y replicación del serotipo 2 del virus del dengue en la línea celular c6/36 (derivada del mosquito *Aedes albopictus*). Ensayos de activación de monocitos con el serotipo 2 del virus del dengue en ausencia o presencia de un anticuerpo bloqueador de TLR4. Evaluación de la producción de mediadores inflamatorios tales como TNF-ALFA, IL-8 e IL-12 en el sobrenadante de monocitos humanos estimulados con el serotipo 2 del virus del dengue. Evaluación de la expresión del gen TLR4 por medio de citometría de flujo.

Resultados:

Los resultados mostraron que bloqueando el 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: el factor de necrosis tumoral alfa. La producción de TNF-ALFA es un indicador inequívoco de activación celular en monocitos humanos y de hecho es una de las citocinas que, como se describió en el marco teórico, participa en la inmunopatogénesis de la enfermedad. Las células que fueron pre-incubadas en presencia del anticuerpo bloqueador para TLR4 y después estimuladas con virus dengue no produjeron una cantidad abundante de TNF-ALFA, a diferencia de las que no fueron bloqueadas, pero si fueron estimuladas con virus dengue. El efecto de bloqueo fue selectivo para la citocina

TNF-ALFA, 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) lo cual nos lleva a pensar que posiblemente el receptor TLR4 no participa en la producción de estos mediadores inflamatorios a diferencia del LPS.

Discusión:

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-ALFA, principal citocina inflamatoria que es producida *in vivo* e *in vitro*. Los resultados obtenidos de la medición de IL-8 sugieren que la producción de este mediador inflamatorio no se da como una consecuencia del reconocimiento del virus a través de TLR4; pues al comparar células estimuladas, que fueron además bloqueadas, contra las que no lo fueron, se obtuvieron diferencias que no son estadísticamente significativas. En el modelo evaluado (monocitos humanos) y bajo nuestras condiciones, no hubo producción de IL-12, tanto en células estimuladas sin bloqueo de TLR4, como en donde se bloqueó el receptor. 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 bibliográficas:

1. McBride, WJ.; Bielefeldt-Ohmann, H. (2000). "Dengue viral infections; pathogenesis and epidemiology". *Microbes Infect.* 2(9); 1041-1050.
2. "Panorama epidemiológico del dengue y dengue hemorrágico en entidades federativas". <http://www.cenave.gob.mx/dengue/panorama/Panoramasemana322006.pdf> 13 de septiembre del 2006.
3. Gubler, DJ. (1998) "Dengue and dengue hemorrhagic fever". *Clin Microbiol Rev.* 11(3); 480-496.