



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUIMICA**

**IMPORTANCIA DEL MyD88 EN LA PRODUCCIÓN  
DE CITOCINAS INFLAMATORIAS  
EN MACRÓFAGO**

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE  
ACTUALIZACIÓN**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**ANGÉLICA JUÁREZ RAMÍREZ**



**MÉXICO D.F.**

**2008**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



---

---

## **JURADO ASIGNADO**

PRESIDENTE:	Profesor Saturnino de León Chapa
VOCAL	Profesora Elia Brosla Naranjo Rodríguez
SECRETARIO	Profesor Fernando García Tamayo
1er SUPLENTE	Profesora Patricia Elvira Berron Ruiz
2º SUPLENTE	Profesora Maria Guadalupe Reyes García

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA  
Laboratorio de Inmunología 202-B Facultad de Química

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Fernando García Tamayo

SUSTENTANTE:

Angélica Juárez Ramírez

**AGRADECIMIENTOS**

- Agradezco a Dios por permitirme llegar a este momento tan importante, en el cual veo realizado uno de mis más grandes sueños.
- A mi segunda casa la Universidad Nacional Autónoma de México, por forjarme profesionalmente y haberme brindado durante tantos años un apoyo incondicional.
- A todos mis profesores porque sin ellos no podría estar donde me encuentro ahora, gracias por todas sus enseñanzas, sus esfuerzos por hacerme una gran profesionista, y sobretodo por los grandes seres humanos que encontré en muchos de ustedes.
- A mi asesor Dr. Fernando García Tamayo y a Ma. Guadalupe Reyes García, les agradezco el apoyo que he recibido de ustedes no solo en el aspecto profesional sino personalmente gracias por estar conmigo en momentos difíciles.
- A mis sinodales agradezco que me hayan otorgado un poco de su valioso tiempo para revisar y corregir este trabajo que ahora presento.

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A mis padres**

Este gran logro se lo debo a ustedes dos, aunque ya no estés con nosotros mami, tu eres un gran motor en mi vida, gracias por todos los momentos bellos que compartiste con nosotros y gracias por hacerme la mujer que ahora soy. A ti papi gracias por tu apoyo incondicional por tus palabras de aliento cuando creía no poder, gracias por que eres lo más importante que tengo en la vida los amo a los dos.

### **A mis hermanos**

Fredy y Alex aunque a veces son un dolor de cabeza no se que haría sin ustedes, gracias por las alegrías que me han dado saben que los quiero muchísimo, gracias por ser los mejores hermanos del mundo, no los cambiaría por nadie.

### **A mis segundos papas**

A mi tía Mercedes y mi tío Isaías, gracias por estar para mí siempre, gracias por apoyarme incondicionalmente y ponerme los pies en la tierra, son una parte muy importante en mi vida los quiero mucho.

### **A mis hermanas**

Naye, Kari y Nancy por acogerme como su hermana, gracias por todos los días que hemos compartido y que seguiremos compartiendo, gracia porque me han ayudado en momentos difíciles, las quiero mucho.

### **A mis tías, tíos y primos.**

Gracias por apoyarme en todo momento y hacerme sentir muy querida por ustedes, agradezco a Dios haberme mandado en una familia tan hermosa y unida porque sin ustedes y sin todos sus consejos no sería la misma persona.

### **A mis abuelitos**

Gracias mami por ser una extraordinaria abuela, por apoyarme siempre y mimarme tanto, gracias porque siempre me has consolado cuando lo he necesitados, a ti abuelito te agradezco el apoyo que me has brindado. A ti abuelita Victoria gracias por ser tan cariñosa conmigo y por preocuparte siempre, gracias por brindarme tu apoyo incondicional.

**A mis amigos**

Bianii, Cris, Gina, Luisito y Verito, lo logramos chicos, y digo lo logramos porque sin ustedes quien sabe si hubiera podido, les agradezco todos sus consejos su apoyo y sobretodo gracias por ser los mejores amigos, los quiero mucho chicos.

**A mis compañeros**

Gracias por haberme brindado su compañía incondicional, por todas las horas de estudio, de alegría y tristeza, gracias por estar conmigo en esta hermosa carrera.



## INDICE

<b>ABREVIATURAS.....</b>	1
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	4
<b>2. EL SISTEMA INMUNE.....</b>	6
<b>2.1. Los linfocitos.....</b>	9
<b>2.1.1 Los linfocitos pueden ser células T o B.....</b>	10
<b>2.2 Células que presentan los antígenos.....</b>	11
<b>2.2.1 El sistema mononuclear fagocítico.....</b>	11
<b>2.2.2. La fagocitosis.....</b>	12
<b>2.2.3. Los macrófagos.....</b>	14
<b>2.3 Activación de los macrófagos.....</b>	17
<b>2.3.1 Los Lipopolisacáridos.....</b>	18
<b>2.3.2 Ácido lipoteicoico.....</b>	18
<b>2.4 Las Citocinas.....</b>	19
<b>2.4.1 Interleucinas.....</b>	20
<b>2.4.2 Interferones.....</b>	20
<b>2.4.3 Las citocinas en la inflamación.....</b>	21
<b>2.4.4 Receptores de citocina.....</b>	22
<b>2.4.4.1 Activación de las vías de comunicación intracelulares.....</b>	23
<b>3. PROCESO INFLAMATORIO.....</b>	27
<b>3.1 Inflamación.....</b>	28
<b>3.1.1 Inflamación Crónica.....</b>	31
<b>4. INTERLEUCINA-1.....</b>	34
<b>4.1 Acción de la IL-1.....</b>	35
<b>4.2 El receptor de la IL-1.....</b>	36
<b>4.3 Cascada de señalización citoplasmática.....</b>	38



---

<b>5. RECEPTORES TLR E IL-1R</b> .....	39
<b>5.1 Receptores Toll-like</b> .....	39
<b>5.1.1 Estructura</b> .....	40
<b>5.1.2 Clasificación</b> .....	41
TLR4 .....	41
TLR2, TLR1 y TLR6.....	42
TLR5.....	42
TLR3.....	43
TLR9 y TLR7.....	43
<b>5.1.3 Vía de señalización</b> .....	43
<b>5.2 Vías de señalización activadas por de TLR2</b> .....	45
<b>5.3 La función de los TLR en la señalización inducida por LPS</b> .....	47
<b>5.4 Importancia de los TLR</b> .....	48
<b>5.5 Homología de los TLR e IL-1 (TIR)</b> .....	49
<b>6. PROTEINA MyD88</b> .....	50
<b>6.1 Descubrimiento</b> .....	50
<b>6.2 Importancia</b> .....	51
<b>6.3 Señalización</b> .....	52
<b>6.4 Experimentos relacionados</b> .....	54
<b>6.5 Vía Dependiente de MyD88</b> .....	55
<b>6.6 Vía Independiente de MyD88</b> .....	57
<b>7. FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN <math>\kappa</math>B</b> .....	58
<b>7.1 Características</b> .....	58
<b>7.2 Vía de señalización</b> .....	58
<b>7.3 Enfermedades relacionadas</b> .....	62
<b>7.3.1. Tratamiento</b> .....	65

---





---

<b>8. ENFERMEDADES RELACIONAS CON MyD88.....</b>	<b>68</b>
<b>8.1. Autoinmunidad.....</b>	<b>68</b>
<b>8.2 Artritis Reumatoide (AR).....</b>	<b>69</b>
8.2.1 Patofisiología.....	70
8.2.2 Tratamiento.....	72
<b>8.3 Esclerosis Multiple (EM).....</b>	<b>73</b>
8.3.1 Patofisiología.....	74
8.3.2 Tratamiento.....	74
<b>9. FARMACOS.....</b>	<b>75</b>
<b>9.1 Anti-inflamatorios no esteroideos.....</b>	<b>75</b>
9.1.1 Indometacina.....	76
<b>9.2 Inhibidores de la COX.....</b>	<b>77</b>
<b>9.3 Fármacos Antirreumáticos tradicionales para la enfermedad modificada</b>	<b>78</b>
<b>9.4 Corticosteroides.....</b>	<b>78</b>
<b>9.5 Agentes alquilantes citotóxicos.....</b>	<b>79</b>
<b>9.6 Otras terapias.....</b>	<b>79</b>
<b>9.7 Compuestos en investigación.....</b>	<b>80</b>
<b>10. DETECCIÓN DE MyD88.....</b>	<b>83</b>
<b>10.1 Electroforesis Desnaturalizante.....</b>	<b>83</b>
<b>10.2 Inmunotransferencia.....</b>	<b>84</b>
<b>10.3 Prueba de inmonoabsorción ligada a enzima.....</b>	<b>85</b>
<b>11. CONCLUSIONES.....</b>	<b>86</b>
<b>12. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>87</b>

---



## ABREVIATURAS

aa	Aminoácidos
ACTH	Hormona Adrenocorticotropica
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ALT	Ácido Lipoteicoico
AINES	Anti-inflamatorios no esteroideos
AMP	Adenosin monofosfato
AP-1	Factor de transcripción
AR	Artritis Reumatoide
ATF	Factor de transcripción
C3a	Fragmento "a" de C3
C3b	Fragmento "b" de C3
C5b	Fragmento "b" de C5
CAMP	AMP cíclico
CD4	Antígeno de diferenciación de células TH
CD14	Antígeno asociado a TLR-4
C/EBF	Factor de transcripción
CREB	Proteína de fijación del elemento de respuesta a AMPc
COX	Ciclooxigenasa
COX-2	Ciclooxigenasa tipo 2
CPA	Célula presentadora de antígenos
DD	Dominio de muerte
DMARD	Fármacos antirreumáticos tradicionales para la enfermedad modificada
E3	Ligando para activar NFκB
ECSIT	Intermediario conservado evolutivo en la vía de Toll
ELISA	Prueba de inmunoabsorción ligada a enzima
Elk-1	Factor de activación, es activado por cinasas MAP
ERK	Cinasa de respuesta a señales extracelulares
ERK ½	Cinasa de respuesta a señales extracelulares ½
EASN	Espondiloartropatías seronegativas
Fas	molécula expresada por diversas células, actúa como diana para la unión de FasL
FDA	Administración de alimentos y medicamentos
Fc	Fragmento cristalizante
GM-CSF	Factor de estimulación de colonias de macrófagos – granulocitos
HSP160	Proteína de shock 16
ID	Dominio intermedio
Ig-E	Inmunoglobulina E
Ig-G	Inmunoglobulina G
IFN	Interferón



IKK	Cinasa de IκB
IκB	Inhibidor de kappa B
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
IL-18	Interleucina 18
IL-1R	Receptor de la Interleucina 1
IL-1R1	Receptor de la Interleucina 1 tipo 1
IL-1Ra	Antagonista del Receptor de la Interleucina 1
IL-1RAcP	Proteína accesoria IL-IR
IRAK	Cinasa asociada al receptor de IL-1
IRAK 1-4	Receptor de la IL-1 asociado a cinasa tipo 1 a 4
IRAK-M	Receptor de IL-1 asociado a cinasa tipo M
IRF	Factor de regulación de interferones
IRF5	Factor de regulación de interferones 5
IRF1	Factor de regulación de interferones 1
JAK	Cinasa Janus
JNK	Cinasa N terminal de Jun
LAF	Factor de activación linfocítica
LBP	Proteína de fase aguda
LPS	Lipopolisacáridos
MAL	También conocido como TIRAP
MAP	Proteína asociada a microtubulo
MAPK	Proteína cinasa activada por mitógeno
MAPKKK	MAPK-Cinasa-Cinasa-Cinasa
M-CSF	Factor que estimula formación de colonias de macrófagos
MEKK	Mitogeno activado proteína cinasa-cinasa
MLK3	MAPK-cinasa-cinasa
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad
MKK	MAPK-cinasa
MΦ	Macrófago
MyD88	Factor 88 de Diferenciación Mieloide
MyD88s	Empalme del factor 88 de diferenciación mieloide
NFκB	Factor Nuclear de Transcripción Kappa-B
NIK	Cinasa inductora del NFκB
NIK-DN	Dominio de muerte de cinasa inductora del NFκB
NK	Natural killer
OA	Osteoartritis
PI3k	Fosfatidilinositol 3 cinasa
p38	Es una cinasa



PAMPs	Moléculas asociadas a microorganismos patógenos
PEST	Dominio proteolítico
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandina E2
PLC	Fosfolipasa tipo C
PKB	Proteína cinasa B
PKC	Proteína cinasa C
RTK	Receptor con actividad de cinasa de residuos de tirosina
SARM	Proteína modificada de armadillo conteniendo $\alpha$ esteril
SLE	Lupus eritematoso sistémico
SNC	Sistema Nervioso Central
SRF	Factor que responde a suero
STAT	Señal de transducción y activador de la transcripción
TAB-1	Proteína de asociación a TAK1
TAB-2	Proteína de asociación a TAK2
TAB-3	Proteína de asociación a TAK3
TAK-1	Cinasa activada por factor de crecimiento transformante
TGF $\beta$	Factor beta transformador del crecimiento
Th1	Linfocito colaborador 1
Th2	Linfocito colaborador 2
Th	Linfocito colaborador
TIR	Dominio del receptor de IL-1/Toll
TIRAP	Dominio TIR conteniendo un adaptador de proteína
TLR	Receptor Toll-like
TLRs	Receptores Toll-like
TLR4	Receptor Toll-like tipo 4
TNF	Factor necrosante de tumores
TNF- $\alpha$	Factor necrosante de tumores $\alpha$
TNF- $\beta$	Factor necrosante de tumores $\beta$
TNF- $\gamma$	Factor necrosante de tumores $\gamma$
Toll	Receptor de membrana en las moscas
TRAF	Factor asociado al receptor para TNF
TRAF2-DN	Dominio de muerte del factor asociado 2 al receptor para TNF
TRAF6	Factor asociado 6 al receptor para el TNF
TRAF6-DN	Dominio de muerte del factor asociado 6 al receptor para TNF
TRAM	TRIF relacionado con molécula adaptadora
TRIF	Dominio TIR conteniendo un adaptador de TNF
UBC13	Ligando que interviene en la vía dependiente de MyD88
UEVIA	Ligando que interviene en la vía dependiente de MyD88
UV	Ultravioleta
$\mu\text{m}$	Micrómetro



## **1. INTRODUCCIÓN**

Inflamación es una palabra utilizada para describir un conjunto de síntomas y signos (dolor, rubor, calor y edema) provocados por la respuesta vascular (vasodilatación, aumento de la permeabilidad capilar y diapédesis) alrededor de una lesión tisular que puede estar causada por diferentes factores (físicos, químicos y biológicos) así como por el reconocimiento de un antígeno extraño dentro del cuerpo. La inflamación se encuentra modulada por una serie de sustancias, llamadas citocinas, que son secretadas por las células que se salen de los vasos capilares alrededor de la lesión. Para cada citocina existen receptores específicos localizados en la superficie de la membrana de diversas células, particularmente de las células del sistema inmune y las del endotelio de los vasos sanguíneos. Las principales células productoras de citocinas son los macrófagos, los linfocitos y las células dendríticas y sus actividades serán revisadas con más detalle más adelante. Las citocinas son moduladoras de la inflamación porque pueden inducirla, facilitarla o inhibirla, razón por la cual se las clasifica como pro y anti-inflamatorias. Las reacciones inflamatorias son muy comunes. Tienen una gran importancia los receptores que expresan los macrófagos para unirse a diversos productos bacterianos, ya que a través de ellos se activan señales que estimular la síntesis de las citocinas pro-inflamatorias. En esas vías de señalización participa la proteína MyD88 que se encuentra acoplada a varios receptores de membrana y al factor nuclear kappa B que es un factor de transcripción. Las reacciones inflamatorias que inician los macrófagos forman parte de los mecanismos defensivos innatos y por lo tanto aparecen inespecíficamente y contribuyen a eliminar los antígenos extraños y a mantener la salud. Pero las mismas reacciones inflamatorias también pueden ser parte de algunos mecanismos específicos de lesión (reacciones de hipersensibilidad) y, cuando se prolongan, pueden provocar la aparición de enfermedades degenerativas. Por eso en los últimos años ha aumentado el interés por controlar o modular a través de productos farmacéuticos que tengan un efecto anti-inflamatorio y que permitan controlar la producción de las citocinas pro-inflamatorias y de las prostaglandinas. También se ha intentado manipular las vías de señalización que se activan después de la unión de las



citocinas con su receptor o bloquear los receptores de membrana que son estimulados por sus inductores. El estudio de las citocinas pro-inflamatorias y de todos los factores que influyen en su liberación, como la proteína acopladora MyD88, es una gran ayuda para buscar sustancias naturales o fármacos que, por tener un efecto anti-inflamatorio, mejoren



## 2. EL SISTEMA INMUNE

El sistema inmune está formado por un conjunto heterogéneo de células que pueden estar libres en la circulación o fijas en los tejidos y que pueden tener distintas funciones. Algunas de ellas están involucradas en la presentación y/o el reconocimiento de los antígenos, así como en la respuesta contra los mismos. Otras células estimulan o suprimen la actividad de las primeras e interactúan unas con otras en la relación simbiótica<sup>1</sup>. La respuesta de todas esas células proporciona la inmunidad, la cual se puede dividir en innata y adaptativa. La inmunidad innata algunas veces llamada inmunidad no específica o natural, incluye barreras físicas, químicas y otros mecanismos que sirven como primera línea de defensa contra microorganismos y otros invasores. La inmunidad específica depende del sistema inmune, llamado adaptativo o adquirido, el cual tiene la capacidad de producir una respuesta defensiva contra los agentes infecciosos, además de que es capaz de recordar las características de sus antígenos y, en algunos casos, evita que en el futuro se repitan las mismas infecciones (ver tabla1). [1, 8]

**TABLA 1** Diferencias entre inmunidad innata y adaptativa [9]

	<i>Inmunidad Innata</i>	<i>Inmunidad Adaptativa</i>
<i>Tipo de respuesta</i>	Antígeno Independiente	Antígeno Dependiente
<i>Tiempo de respuesta</i>	Respuesta máxima inmediata	Largo tiempo entre exposición y respuesta máxima
<i>Respuesta específica</i>	Antígeno No específicos	Antígenos Específicos
<i>Post-exposición</i>	No memoria inmunológica	Memoria Inmunológica

El trabajo del sistema inmune es reconocer y eliminar todas aquellas sustancias extrañas, conocidas como antígenos, que penetran al cuerpo. Existen dos clases principales de respuestas inmunitarias contra los antígenos extraños, una mediada por moléculas solubles

<sup>1</sup> simbiótica: Asociación íntima entre dos organismos de especies diferentes, de la cual ambos obtienen a largo plazo una ventaja selectiva.<sup>139</sup>



conocidas como anticuerpos y otra mediada por células citotóxicas. Los anticuerpos son producidos por linfocitos B que se han transformado en células plasmáticas. Los anticuerpos tienen una gran cantidad de actividades biológicas, tales como neutralizar toxinas, bloquear la invasividad de virus, eliminar tejido dañado, activar el sistema complemento, facilitar la fagocitosis, etc. Las células citotóxicas son linfocitos T que tienen la propiedad de matar células blancas, lo cual generalmente lo hacen mediante la producción y liberación de perforinas y granzimas, que permiten la estimulación de las enzimas (caspasas) que activan los mecanismos de muerte celular programada. [9]

Los antígenos se llaman inmunógenos cuando encuentran las condiciones necesarias para estimular al sistema inmune. La mayoría de los inmunógenos son proteínas que forman macromoléculas complejas. Solo pequeñas partes del antígeno, llamadas determinantes antigénicos o epítopes<sup>2</sup> son reconocidos por los receptores de los linfocitos T y B. La valencia del antígeno y su inmunogenicidad dependen de su número de epítopes, el cual aumenta proporcionalmente a su peso molecular. [9]

Cualquier antígeno extraño que se introduce al cuerpo es rastreado por el sistema inmune. En algunos casos este proceso implica inicialmente la captura y la digestión enzimática de la molécula extraña, después la presentación de sus epítopes, en seguida el reconocimiento de los mismos por los linfocitos T o B y, finalmente, la respuesta celular o humoral de estas células. En la respuesta del sistema inmune siempre está asociada una reacción inflamatoria que facilita la captura de la molécula extraña y su ulterior eliminación. Las reacciones inflamatorias provocadas por las respuestas del sistema inmune son inducidas y moduladas por citocinas. [1]

---

<sup>2</sup> epítopes: También llamado grupo determinante. Cada uno de los grupos químicos reconocidos como extraños por el organismo y que va a determinar la formación de un Ac específico.<sup>139</sup>





**TABLA 2** Principales Células y Mediadores químicos de la inmunidad [9]

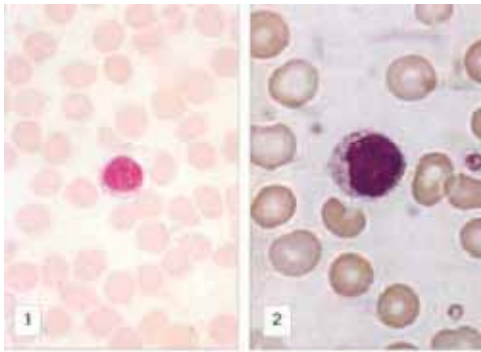
<i>Células y Mediadores</i>	<i>Función</i>
<b>Células que Fagocitan y presentan antígenos</b>	Los fagocitos matan y eliminan patógenos, secretan quimiocinas y citocinas. Su función es especializada, presentan antígenos a células linfoides. Las principales son los macrófagos y las células dendríticas.
<b>Células Asesinas Naturales (NK)</b>	Las células NK son citotóxicas y actúan en células infectadas por virus. También reconocen MHC en células del cáncer, infectadas por virus o que están activadas por IL-2 e INF- $\gamma$ .
<b>Células que reconocen los antígenos</b>	Los linfocitos pueden ser B (productores de anticuerpos) o T (citotóxicos). También existen los linfocitos T reguladores (CD25) que tienen una actividad supresora.
<b>Quimiocinas</b>	La IL-8 y algunos subcomponentes del sistema complemento son los principales quimioattractores y pro-inflamatorios porque ayudan al ataque por leucocitos en el sitio de infección.
<b>Oponinas</b>	Las IgG, algunos subcomponentes del sistema complemento y varias colectinas son las más importantes. Promueven la fagocitosis, preparan los patógenos para la fagocitosis por unirse a los receptores de fagocitos.
<b>Citocinas</b>	<p>Pueden ser interleucinas, factores necrosantes de tumores, interferones, etc.</p> <p>La IL-1 estimula las células del sistema inmune.</p> <p>La IL-6 promueve la liberación de proteínas de fase aguda</p> <p>El TNF<math>\alpha</math> puede inducir la apoptosis.</p> <p>Los interferones <math>\alpha</math> y <math>\beta</math> neutralizan la actividad viral en células del hospedero.</p> <p>La IL-12 promueve la proliferación de células T.</p>



Todas las células del sistema inmune proceden del tejido hematopoyético, donde se encuentran las células madre pluripotenciales<sup>3</sup>, de las que se derivan dos estirpes; una de ellas da lugar a las células linfoides y la otra a las mieloides. La célula progenitora linfoide común tiene capacidad para diferenciarse en células T o B, según el microentorno en que se desarrolle. [42]

### 2.1 Los linfocitos

Los linfocitos son las células responsables de las respuestas específicas del sistema inmune en contra de los antígenos que han penetrado al cuerpo. Se originan en el tejido hematopoyético que se encuentra en la médula de los huesos largos. Se encuentran en grandes cantidades en la sangre, en la linfa<sup>4</sup> y en los órganos linfoides especializados como el timo, los ganglios linfáticos, el bazo y el apéndice. En el cuerpo humano existen  $2 \times 10^{12}$  y una parte de ellos se encuentra fuera de los vasos (sanguíneos y linfáticos) y del tejido linfoide. (ver fotografía 1) [1, 8]



**Fotografía 1** Tinción de Giemsa  
1) Los linfocitos pequeños carecen de granulos y presentan un núcleo redondo. 2) Los linfocitos granulosos grandes presentan un núcleo dentado y granulos azurofilos en el citoplasma [9]

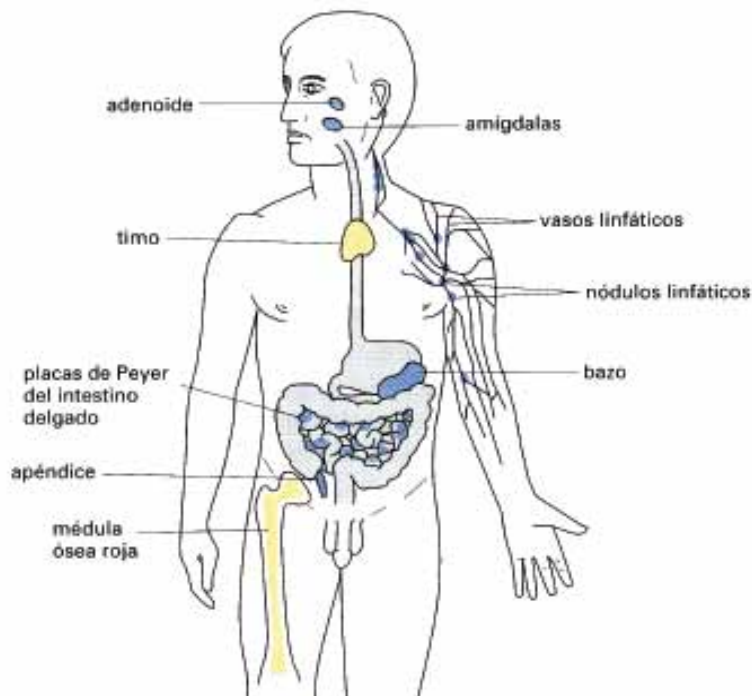
Los dos tipos principales de respuestas inmunitarias están mediadas por esas dos clases diferentes de linfocitos: las células T que han madurado en el timo y son responsables de la inmunidad mediado por células, y las células B, que no maduran en el timo sino que pasan directamente de la médula de los huesos hasta los ganglios y los otros órganos linfoides secundarios. [9]

<sup>3</sup> pluripotenciales: tienen la habilidad de diferenciarse a tejidos procedentes de cualquiera de las tres capas embrionarias.<sup>137</sup>

<sup>4</sup> linfa: líquido incoloro de los vasos linfáticos que conectan los nódulos linfáticos del cuerpo.<sup>139</sup>



La médula ósea y el timo (de color amarillo en la figura 1), se denominan órganos linfoides primarios porque su falta compromete gravemente el desarrollo y las funciones del sistema inmune. Los órganos linfoides secundarios como el bazo, las amígdalas, las placas de Peyer y los ganglios (en la figura 1 de color azul) no son esenciales, pero si son una parte importante del sistema y allí permanecen los linfocitos para completar su maduración y para reconocer antígenos e iniciar la formación de clonas de células linfoides reactivas. [9]



*Figura 1. Los órganos linfoides humanos [137]*

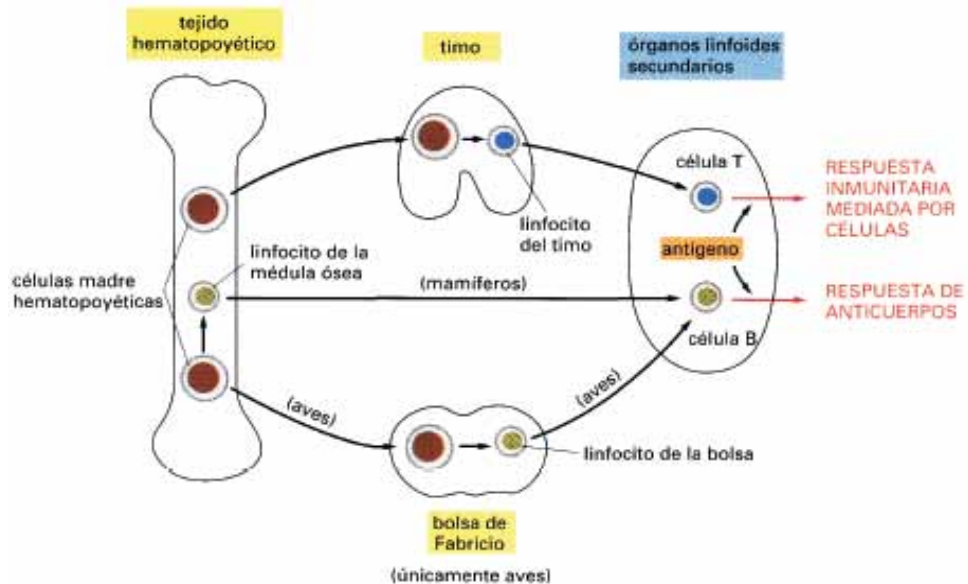
### ***2.2.1 Los linfocitos pueden ser T o B.***

Las dos clases principales de linfocitos son las células T y las B. Existe una tercera población de células mononucleares que no expresan receptores para reconocer antígenos, y que se denominan células asesinas naturales (NK). Las células NK proceden de precursores linfoides de la médula ósea, y se pueden distinguir funcionalmente de las células B y T porque no tienen los marcadores de membrana de los linfocitos y porque tienen la



capacidad para lisar ciertas líneas celulares cultivadas de células tumorales, in vitro y sin sensibilización previa. [42]

El timo y los tejidos hematopoyéticos se conocen como órganos linfoides primarios. Los linfocitos que maduran en ellos se desplazan por los vasos sanguíneos y linfáticos hacia los ganglios, particularmente hacia aquellos que reciben la linfa que proviene del tracto gastrointestinal, del árbol respiratorio y de la piel, porque es a través de sus epitelios por donde penetran al cuerpo la mayoría de los antígenos (ver figura 2). [9]



**Figura 2** El desarrollo de las células T y B, a partir de las células hematopoyéticas de la médula ósea. [137]

## 2.2 Células que presentan los antígenos

### 2.2.1 El Sistema Mononuclear Fagocítico

Las células del sistema fagocítico mononuclear se encuentran presentes en todo el cuerpo y proveen un número de funciones que son de importancia central para el mecanismo de defensa del hospedero. Los fagocitos mononucleares circulan en la sangre como monocitos que pueden salir de los vasos sanguíneos cuando éstos aumentan su permeabilidad a causa de las reacciones inflamatorias. Otras células fagocíticas que circulan en la sangre son las



células de Langerhans que migran desde la epidermis hasta los ganglios utilizando los vasos linfáticos y sanguíneos. Una vez afuera de los vasos sanguíneos, los monocitos se transforman en macrófagos que migran hacia diversos tejidos. [7] Una vez que se han localizado en los ganglios, las células de Langerhans se transforman en células dendríticas presentadoras de antígenos. Además de fagocitar y de presentar antígenos, los macrófagos y las células dendríticas son células fagocíticas mononucleares que se caracterizan porque producen grandes cantidades de citocinas, tanto pro como anti-inflamatorias. [1, 9]

### 2.2.2 *La fagocitosis*

La *fagocitosis* consiste en introducir en el citoplasma de una célula una sustancia particulada que se encuentra fuera de ella. A través de la fagocitosis se destruyen microorganismos patógenos o partículas que la célula fagocítica atrapa y digiere. Las células fagocíticas son la primera línea de defensa y su respuesta es inespecífica. Por esa razón forman parte de la inmunidad innata. [8]

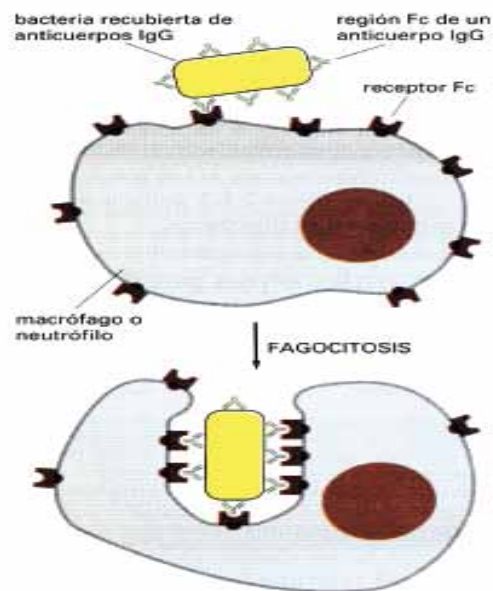
La fagocitosis es una forma especial de endocitosis en la que se ingieren grandes partículas, vía grandes vesículas de endocitosis llamadas fagosomas. En los mamíferos existen dos tipos de células que actúan como fagocitos. Los primeros son las células mononucleares<sup>5</sup>, como los macrófagos y las células dendríticas. Los segundos son las células polimorfonucleares como los neutrófilos. Estos dos tipos de células proceden de un precursor común, y nos defienden contra las infecciones mediante la ingestión de microorganismos invasores. Los macrófagos también desempeñan un importante papel en la eliminación tanto de células viejas y lesionadas como de restos de células que han muerto a través de mecanismos citotóxicos o por apoptosis. En términos cuantitativos, la función de eliminar células dañadas o envejecidas es la más importante que tienen los fagocitos. En cada persona adulta, los macrófagos fagocitan más de  $10^{11}$  eritrocitos viejos cada día. [1, 9]

<sup>5</sup> mononucleares: con un núcleo. <sup>137</sup>



Para que una partícula sea fagocitada, primero ha de unirse a la superficie de la membrana del fagocito. No obstante, no se ingieren todas las partículas que pueden unirse. Los fagocitos tienen toda una gama de receptores de superficie especializados que se encuentran unidos funcionalmente a la maquinaria fagocítica de la célula. [9]

La fagocitosis es un proceso regulado, en el que los receptores activados transmiten la señal al interior de la célula, iniciándose la respuesta. Los inductores o facilitadores de este proceso (llamados opsoninas) que han sido mejor caracterizados son los anticuerpos, que nos protegen contra los microorganismos infecciosos (ver figura 3). [9]



**Figura 3** Fagocitosis facilitada por un anticuerpo [137]

Los anticuerpos se unen a los antígenos en la superficie de los microorganismos formando una cubierta en la que la porción amino terminal de las cadenas pesadas de estas moléculas (llamadas regiones Fc) quedan libres y expuestas al exterior. Esta cubierta de anticuerpos es reconocida entonces por los receptores para Fc (FcR) que se encuentran en la superficie de los macrófagos y de las demás células fagocíticas (ver Figura 3). La unión de las partículas cubiertas por anticuerpos a estos receptores induce a la célula fagocítica a extender



pseudópodos que engullen a la partícula, formando un fagosoma. [9] El proceso de facilitación de la fagocitosis a través de los anticuerpos se conoce como opsonización<sup>6</sup>.

Se han caracterizado algunas otras clases de receptores que facilitan la fagocitosis, como por ejemplo los que reconocen fragmentos de algunos componentes del sistema complemento<sup>7</sup>, y también los que reconocen directamente oligosacáridos de la superficie de ciertos microorganismos. No se sabe qué receptores de los macrófagos reconocen las células viejas o dañadas, aunque se sospecha que en algunos casos están implicadas las proteínas de adhesión celular de la familia de las integrinas. [8, 9]

### 2.2.3 Macrófagos



*Figura 4* Macrófago [138]

Los macrófagos tienen un diámetro de 10 a 40  $\mu\text{m}$  y varían en cuanto a morfología dependiendo de su actividad y su estado. El citoplasma contiene vacuolas, es levemente basofílico y contiene un núcleo de 6 a 12  $\mu\text{m}$  de diámetro. [1]

Los macrófagos tienen siete características principales: 1) son células mononucleares, 2) contienen una gran cantidad de enzimas hidrolasas con las que digieren el material fagocitado, 3) pueden presentar los epítopes de los antígenos fagocitados, 4) tienen receptores de membrana específicos para el fragmento Fc de los anticuerpos y varios fragmentos de subcomponentes del sistema complemento, los cuales actúan como opsoninas, 5) tienen la capacidad de fagocitar, 6) se pueden activar cuando son estimulados por endotoxinas y 7) poseen una habilidad secretora variada y liberan al exterior tanto las proteínas que contienen en sus vacuolas como los lípidos que sintetizan en sus membranas. [2]

<sup>6</sup> opsonización: Acción facilitadora de la fagocitosis por la que macrófagos y neutrófilos polimorfonucleares presentan en su membrana receptores (CR1, CR3 y probablemente CR4) capaces de unir la molécula C3b y sus derivados de manera que si el C3b está fijado sobre la superficie de un germen, los fagocitos pueden conectar con éste mediante sus receptores para C3b facilitándose la fagocitosis.<sup>139</sup>

<sup>7</sup> complemento: Grupo de proteínas séricas que intervienen en los procesos inflamatorios, en la activación de los fagocitos y en los ataques líticos a las membranas celulares. Este sistema puede ser activado por interacciones con el sistema inmunitario (vía clásica).<sup>139</sup>



Debido a que los macrófagos se adhieren al cristal o al plástico, esa propiedad se puede utilizar para separarlos, como células adherentes, de las otras células que no son adherentes. Además de las características mencionadas, los macrófagos desempeñan otras actividades en los ciclos metabólicos de las grasas y son importantes como células accesorias, secretoras, efectoras y reguladoras. [1]

Como células Accesorias, los macrófagos tienen receptores para unirse a los antígenos opsonizados y los fagocitan para posteriormente degradarlos enzimáticamente por medio de una proteólisis<sup>8</sup> lisosomal. [2]

Como células Secretoras, los productos que derivan de macrófagos incluyen enzimas proteolíticas, componentes de complemento, especies de oxígeno reactivo, óxido nítrico, nucleósidos y lípidos bioactivos. Los macrófagos regulan positiva o negativamente la respuesta inflamatoria y las redes inmunológicas mediadas por citocinas. [2]

Como células Efectoras, en contacto con los agentes que estimulan la transcripción de sus genes, los macrófagos se vuelven grandes, se rizan y aumentan la expresión de varios productos que permite que realicen funciones efectoras que pueden llegar hasta la citólisis de otras células. A este estado se le conoce como activación de macrófagos. [2]

Como células Reguladoras, los macrófagos ayudan al control de la respuesta inmune, regulan la proliferación de células T, producen moléculas que suprimen la proliferación de linfocitos incluyendo prostaglandinas y liberan intermediarios tóxicos del oxígeno como el óxido nítrico. [1]

Los macrófagos expresan constitutivamente receptores para diversos lipopolisacáridos (LPS) de distintas bacterias, lo cual facilita la fagocitosis de éstas. Al ser activados por los

---

<sup>8</sup> proteólisis: Degradación de una proteína, habitualmente por hidrólisis en uno o más de sus enlaces peptídicos.<sup>139</sup>





LPS y otros productos de los microorganismos y durante la fagocitosis, los macrófagos secretan moléculas de gran alcance llamadas citocinas pro-inflamatorias: como la Interleucina-1, la Interleucina-6 y el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  que pueden pasar a la circulación y llegar hasta tejidos distantes. [1]

Los macrófagos también producen y liberan al exterior muchas enzimas proteolíticas que tienen gran importancia en una variedad de enfermedades. La colagenasa y el elastano son dos proteasas secretadas por la activación de macrófagos. Estas enzimas son importantes en la degradación de algunos tejidos y ayudan a concentrar o focalizar el sitio de una inflamación dentro del cuerpo. Sin embargo en ciertas enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide, la activación de estas enzimas puede provocar la destrucción de tejidos. Los productos del colágeno son quimiotácticos para el macrófago, así que en el sitio donde se degrada el colágeno se presenta una acumulación de macrófagos causando una inflamación potencial. [2]

En la figura 5 se presenta un panorama general de las múltiples actividades pro-inflamatorias que pueden desarrollar los macrófagos. Pero es conveniente señalar que al mismo tiempo, los macrófagos expresan sobre su membrana numerosos receptores para neurotransmisores inhibitorios que, al ser liberados en las terminaciones de los nervios, pueden reducir las principales actividades pro-inflamatorias de los macrófagos estimulados y/o activados. De este modo, el sistema nervioso modula las principales actividades de los macrófagos. [42]

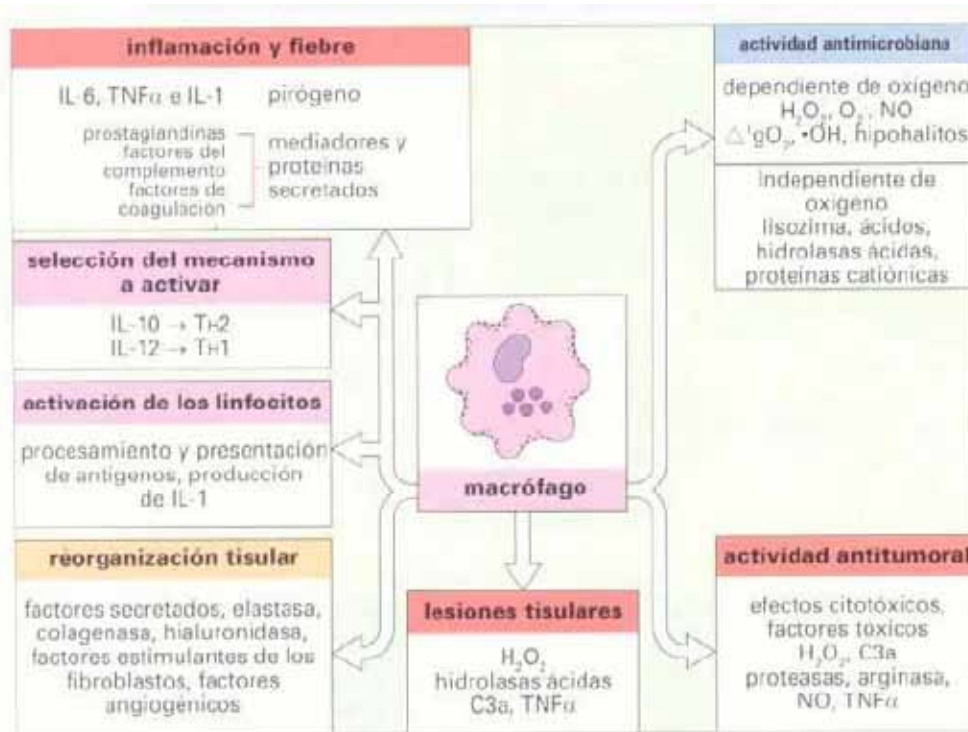


Figura 5 Papel central de los macrófagos en la inflamación [139]

### 2.3 Activación de Macrófagos

Los macrófagos pueden activarse después de estar sometidos a dos tipos de estímulos. Generalmente el primer estímulo son citocinas que proceden de tejidos dañados o infectados. En los estudios in vitro, el INF- $\gamma$  se puede utilizar para simular el primer estímulo. En los animales vivos, existen agentes que estimulan la producción del interferón como los productos de virus o micobacterias. Una vez activados, los macrófagos expresan moléculas MHC de clase II y presentan antígenos para células T CD4. El segundo estímulo usualmente se debe a diversos productos bacterianos, particularmente a los LPS conocidos como endotoxinas. El macrófago activado es una célula asesina ya que puede lisar otras células principalmente tumorales. [42]

Los niveles de activación están sujetos a cambios bioquímicos y morfológicos del macrófago incluyendo cambios en la fagocitosis y producción de especies reactivas derivadas del oxígeno. La activación de los macrófagos es altamente citotóxica para una



gran variedad de células tumorales. Pero los macrófagos también pueden eliminar parásitos y hongos. En respuesta a la activación, los macrófagos producen potentes citocinas proinflamatorias y factores de necrosis tumoral como el TNF- $\alpha$ . [7]

### 2.3.1 *Los lipopolisacáridos (LPS)*

Los LPS denominados también endotoxinas, son moléculas anfifílicas<sup>9</sup> presentes en las bacterias Gram-negativas. Estas bacterias se caracterizan porque en la pared celular el peptidoglicano está rodeado de una membrana externa y a nivel de esta membrana se encuentra el LPS; esta molécula participa en la fisiología de las membranas y es esencial en el crecimiento y supervivencia bacteriana. El LPS es el blanco principal de los antibióticos y también de los componentes del sistema inmune. Cuando son liberados por los microorganismos, los LPS juegan un papel muy importante en la patogénesis y la manifestación de enfermedades causadas por infecciones de bacterias Gram-negativas y en particular en el choque séptico.<sup>10</sup> [5]

### 2.3.2 *Ácido Lipoteicoico (ALT)*

El ALT es un componente de la pared celular de las bacterias Gram positivas, bacterias que se caracterizan porque, rodeando a la membrana citoplasmática, se encuentra la pared celular de peptidoglicanos que es más gruesa que la pared celular de las bacterias Gramnegativas. Aunque al LPS se le ha considerado como el principal factor de virulencia bacteriano, en fechas recientes se ha demostrado que el ALT comparte muchas propiedades patofisiológicas con el LPS ya que actúa como un potente agonista de los receptores (receptores parecidos a Toll) que tienen los macrófagos para los productos bacterianos. Los ALT tienen propiedades antiinflamatorias y juegan un papel clave en la patofisiología del choque séptico. [5, 8]

---

<sup>9</sup> anfifílicas: sustancias que poseen una parte soluble en agua que por lo general es una parte polar y otra parte que es insoluble es apolar.<sup>139</sup>

<sup>10</sup> choque séptico: desencadenado por una serie de eventos complejos a nivel de la cascada inflamatoria, que tienen como resultado una insuficiencia vascular periférica y depresión miocárdica.<sup>139</sup>



## 2.4 Las Citocinas

Las citocinas son proteínas solubles que transmiten señales de una célula a otra. Tienen un efecto mayoritariamente local a excepción de la IL-1, IL-6 y el TNF- $\alpha$ . Proviene principalmente de los macrófagos y de las células dendríticas, pero también son producidas por la mayor parte de las células de la sangre periférica incluyendo al tejido linfoide, los fibroblastos, las células epiteliales, los queratinocitos y las células endoteliales. La secreción de las citocinas es la respuesta a diferentes estímulos que pueden ser antígenos, agentes infecciosos, células tumorales, complejos antígeno-anticuerpo, cambios en la concentración de algunas hormonas y daño tisular entre otras, hasta factores físicos como cambios excesivos en la temperatura. La producción y liberación de las citocinas son parte de la respuesta inmune inflamatoria y actúan en concentración picomolar y nanomolar (ver tabla 3). [8]

**TABLA 3.** Clasificación de las principales citocinas [8]

Nombre	Función
Interleucinas (IL)	<i>Comunican a los leucocitos</i>
Interferones (IFN)	<i>Estimulan fagocitos y células citotóxicas</i>
Factores estimulantes de colonias (GSF)	<i>Estimulan la multiplicación y diferenciación de las células pluripotentes de la médula ósea</i>
Factores necrosantes de tumores (TNF)	<i>Inducen muerte por apoptosis de otras células</i>
Factores que transforman el crecimiento (TGF)	<i>Suprimen la respuesta e inhiben el crecimiento de varias células</i>
Quimiocinas	<i>Estimulan desplazamiento de fagocitos</i>
<i>Neurotrofinas</i>	<i>Crecimiento y diferenciación de neuronas</i>

Para que las citocinas sean liberadas, primeramente la célula debe recibir un estímulo específico. Cuando las citocinas se liberan, deben encontrar a sus receptores específicos sobre la membrana de otras células y a través de ellos las estimulan o inhiben sus



funciones. Las principales funciones de las citocinas se relacionan con el crecimiento y la diferenciación celular, las reacciones inflamatorias y la modulación de la respuesta del sistema inmunitario. Otra de sus características es que son pleiotrópicas<sup>11</sup> Para los propósitos de esta revisión, las citocinas más importantes son las que están relacionadas con el inicio y la evolución de las reacciones inflamatorias. Estas citocinas suelen clasificarse en dos grandes grupos, las pro-inflamatorias que facilitan el desarrollo de procesos inflamatorios y las anti-inflamatorias que atenúan esos mismos procesos. Las citocinas son moduladoras de las reacciones inflamatorias. [1, 3, 9]

### ***2.4.1 Interleucinas***

Son proteínas solubles, clasificadas como citocinas, que actúan como mensajeros porque permiten la comunicación entre poblaciones diferentes de leucocitos. Forman el grupo más amplio y diverso de citocinas. Tienen bajo peso molecular y estimulan la multiplicación, la diferenciación y la respuesta de los linfocitos T y B, así como de otras células que participan en la respuesta inmune. Se producen en forma transitoria durante la presentación y el reconocimiento de los antígenos, así como en el curso de las infecciones. [8, 9]

### ***2.4.2 Interferones***

Pueden ser de tipo I y II. Los interferones tipo I pueden a su vez ser  $\alpha$  y  $\beta$  los cuales están formados por una sola cadena peptídica, actúan como antivirales y participan en la conservación de la inmunidad innata. Los interferones tipo II son más pesados que los I y actúan como moduladores de la inmunidad. Se producen por estimulación de la IL-12. [1]

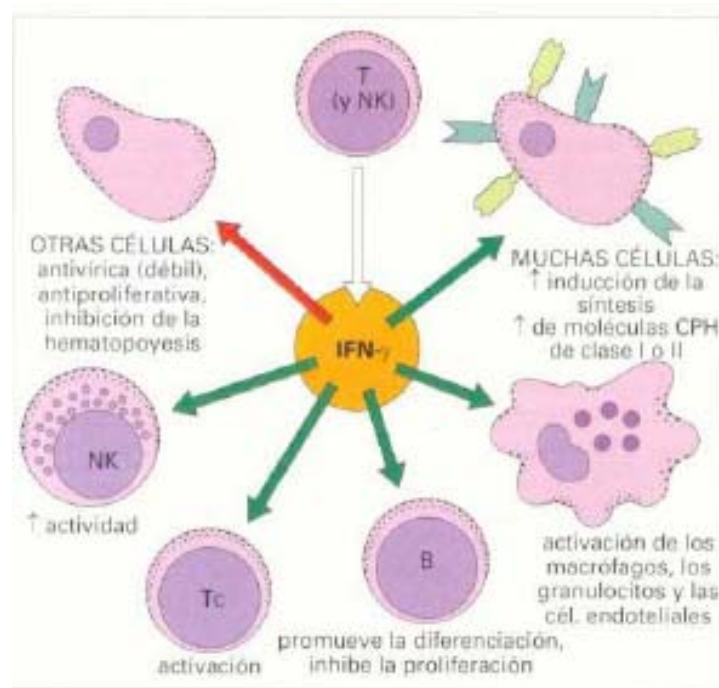
El IFN- $\gamma$  es producido por linfocitos T colaboradores Th1 y por células NK, los Th2 no lo producen. Este interferón actúa sobre monocitos y macrófagos activándolos, aumentando mecanismo de lisis intracelular de los microorganismos fagocitados y su actividad tumoricida. Inhibe la proliferación de los linfocitos B y la síntesis de anticuerpos. [42]

---

<sup>11</sup> pleiotrópica: resistencia a los agentes citotóxicos.<sup>139</sup>



Estas citocinas son especialmente importantes para evitar la diseminación de ciertas infecciones víricas. Algunos interferones ( $IFN\alpha$  e  $IFN\beta$ ) son producidos por la propia célula infectada; mientras otros, como el  $IFN\gamma$ , son producidos por determinadas células T activadas. Se producen en las fases iniciales de la infección y constituyen la primera línea de defensa frente a muchos virus. El  $IFN\gamma$  es el inductor más potente de la activación de los macrófagos y de la expresión de moléculas de clase II en las células tisulares. Tanto en estas como en otras funciones actúa de forma sinérgica con el  $TNF\alpha$  y el  $TNF\beta$  (ver figura 6). [42]



**Figura 6** Acciones del  $IFN\gamma$  [139]

### 2.4.3 Citocinas en la inflamación

Las citocinas también son importantes en la transmisión de señales entre las células en el curso de las respuestas inflamatorias. En las fases iniciales, las células tisulares en las que se está produciendo la reacción inflamatoria pueden liberar citocinas como IL-1, IL-6. Una vez que los linfocitos y las células mononucleares acuden a la región inflamada, pueden ser activados por los antígenos y liberar citocinas (IL-1, TNF, IL-4,  $IFN\gamma$ ), que estimula aún más la migración celular mediante sus efectos sobre el endotelio local. Otras citocinas,



como IL-8, son quimiotácticas o estimulantes de la migración de las células que acuden a la región inflamada. [7]

La secreción excesiva de citocinas (especialmente de TNF $\alpha$ ) puede provocar el síndrome del shock tóxico, necrosis hemorrágica y la reacción de Shwartzman, así como contribuir a la necrosis presente en las zonas en que se produce la reacción mediada por células (fenómeno de Koch). [42]

#### ***2.4.4 Receptores de Citocinas***

Los receptores de las citocinas presentan una estructura típica; con un dominio extracelular, un único dominio transmembranal y un tercer dominio en el citoplasma. Las citocinas tienen diferentes tipos de células blanco, y sus receptores se encuentran en la membrana de estas células. [1]

Las citocinas se unen con receptores específicos de la membrana celular, desencadenando una cascada de respuesta implicada en la inducción, ampliación o inhibición de una serie de genes regulados por citocinas a nivel nuclear. Esta serie de mensajes que van desde el receptor hasta el núcleo se conocen como vías de señalización. [42]

Si se tiene en cuenta la estructura tridimensional de las citocinas, resulta más sencillo dividir las en grupos, que presentan una importante correlación en la estructura y en las secuencias de sus receptores de superficie. La primera gran familia de receptores de citocinas se denomina superfamilia de receptores de IL-6 y se caracteriza por una región extracelular con homología estructural de unos 200 aa de longitud y a ella pertenecen los receptores para IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-12, el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), además de receptores de factores cuya actividad no se produce a nivel inmune, como la hormona de crecimiento o la prolactina. Una segunda familia de receptores de citocinas relacionados forma parte de la superfamilia de las inmunoglobulinas y comprende receptores para todos los tipos de IFN, además de los



dos receptores para IL-1 y M-CSF. Una tercera familia de receptores la constituyen las moléculas receptoras de  $TNF\alpha$ ,  $TNF\beta$  y una serie de citocinas relacionadas, como el receptor del factor de crecimiento nervioso y Fas que participa en la muerte celular. [42]

La mayor parte de los receptores de citocinas son glucoproteínas de membrana tipo 1, con un único dominio transmembranal. Sin embargo, el receptor funcional comprende en general dos o más subunidades, compartidas por diversos complejos receptores de citocina. Con frecuencia las citocinas se ligan con una subunidad privada muy específica y con otra pública, compartida con otras citocinas relacionadas. [1]

Las quimiocinas se unen todas a un tipo de receptor especial, denominado glucoproteína con forma de serpiente que tiene siete dominios transmembranales por su estructura y que está asociado a proteínas G de membrana. Pocos receptores de este grupo son específicos para una quimiocina única, siendo más frecuente que varias compartan receptor. [1]

#### ***2.4.4.1 Activación de las vías de comunicación intracelulares***

Los estudios sobre transducción<sup>12</sup> de señales, junto con la biología estructural, han unificado la biología de las citocinas. Cada vez se conoce mejor la secuencia de reconocimientos proteína-proteína que relaciona la unión de una citocina en la superficie celular con la actividad a nivel intranuclear de diversos factores de transcripción<sup>13</sup>. Como se afirmaba antes, el primer paso en la comunicación por citocinas es la agregación de los diversos componentes del receptor inducida por la unión del ligando. Las regiones citoplasmáticas de estas subunidades del receptor interactúan para iniciar una cascada de señales. La forma más sencilla corresponde a una sola molécula de receptor que forma un homodímero<sup>14</sup> cuando se une el ligando (citocina). También un receptor privado puede

<sup>12</sup> transducción: proceso de transferencia del DNA de una bacteria a otra mediado por un virus capaz de infectar bacterias.<sup>139</sup>

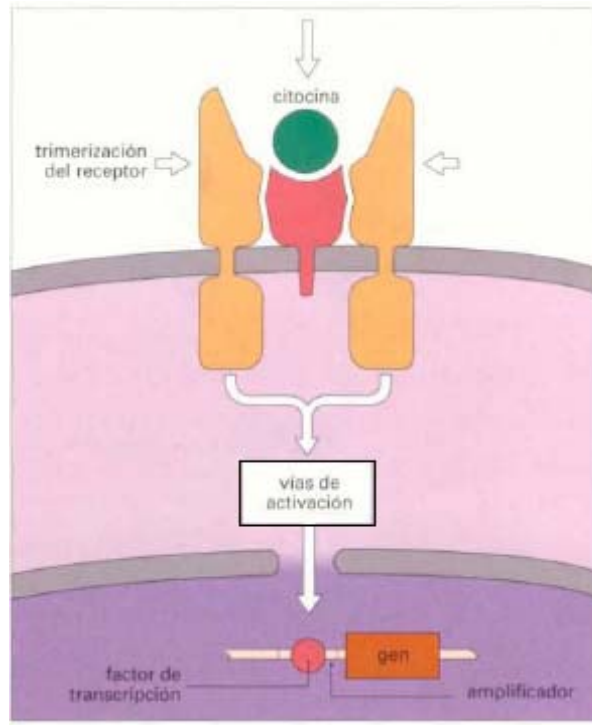
<sup>13</sup> transcripción: Copia de una hebra del DNA a una secuencia complementaria de RNA, mediante la enzima RNA polimerasa.<sup>139</sup>

<sup>14</sup> homodímero: Es una molécula formada por dos subunidades idénticas





determinar la hetero u homodimerización de un dominio público de transducción de señales. [42]



**Figura 7.** Esquema sobre las vías de señalización que se activan cuando las citocinas se unen a su receptor [139]

En la figura 7 se muestra un sencillo modelo de la activación celular por citocinas. Las citocinas se ligan con su receptor celular e inducen la dimerización<sup>15</sup> o polimerización<sup>16</sup> de los polipéptidos del mismo, activando un sistema de señales intracelular (como las cascadas de cinasas), que culmina en la activación de factores de transcripción, que migran hacia el núcleo y se unen con las regiones amplificadoras de los genes inducidos por la citocina.

[1, 8]

Todos los receptores de las citocinas, junto con algunos representantes de otras familias, se asocian con moléculas denominadas cinasas Janus (Jak). La activación de los receptores de

<sup>15</sup> dimerización: cuando dos moléculas se unen formando una nueva molécula que es justo el doble de las otras dos.<sup>139</sup>

<sup>16</sup> polimerización: proceso químico por el cual monómeros se agrupan entre sí formando una molécula de gran tamaño llamada polímero.<sup>139</sup>



Las citocinas induce la fosforilación<sup>17</sup> de la tirosina y la activación de Jak, que son necesarias para la mayoría. La función principal de la citocina es mediar en la agregación concomitante del receptor y de Jak. Posteriormente las cinasas Jak acoplan la unión del ligando con la fosforilación de las tirosinas de varias proteínas de comunicación, incluidas las transductoras de señales y las activadoras de la transcripción (Stat). Los dímeros de Stat se translocan al interior del núcleo, donde se unen directamente al ADN. El receptor de IFN $\alpha$  es un ejemplo de este tipo de transmisiones de señales. [42]

### *Figura 8* Comunicación intracelular [139]

Las funciones acopladas, aunque propias, de cada citocina reflejan el tipo de vía de comunicación intracelular implicada. Las citocinas también estimulan la proliferación celular a través de otras vías, sobre todo la cinasa Ras/MAP. Algunas citocinas pueden activar vías que culminan en la muerte celular por apoptosis<sup>18</sup>. [42]

Parece que no solo Jak activa las Stat, sino que éstas se pueden activar por otras citocinas que siguen una vía diferente. Algunas citocinas como TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  no utilizan la vía Jak-

---

<sup>17</sup> fosforilación: adición de un grupo fosfato (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) a una proteína o cualquier otra molécula.<sup>137</sup>

<sup>18</sup> apoptosis: mecanismo de autodestrucción celular por fragmentación del DNA en segmentos de unos 200 pb, debido a endonucleasas dependientes de calcio activadas por estímulos exógenos.<sup>137</sup>



Stat, sino que activan a miembros de la familia de las cinasas MAP, aumentando la unión de factores de transcripción, como NFκB con el ADN. [42]

El ensamblaje de los receptores específicos o compartidos de las quiomocinas produce en último término el movimiento de la célula, pero las señales intermedias implican a los receptores de las proteínas G, la movilización de segundos mensajeros intracelulares, la reorganización del citoesqueleto, la formación de adherencias focales, la unión y desunión y la extensión y retracción de pseudópodos<sup>19</sup> que consiguen una migración direccional. [9, 42]

---

<sup>19</sup> pseudópodos: Larga evaginación de la superficie celular formada por las células ameboides que les permite la locomoción. De forma más general, cualquier evaginación dinámica rica en actina de la superficie de una célula animal.<sup>139</sup>



### 3. PROCESO INFLAMATORIO

La inflamación es una respuesta vascular que generalmente se inicia alrededor de tejidos que han sido dañados. En este sentido es una respuesta defensiva inespecífica, para eliminar el agente que provocó el daño (toxina, por ejemplo), restringir sus efectos o para reparar y sanar los tejidos. La inflamación forma parte de la inmunidad innata y por lo general puede ser inducida en el curso de infecciones o traumatismos. Sin embargo, la inflamación también es un mecanismo que se presenta al final de la respuesta inmune específica y algunas veces puede provocar más daño tisular en lugar de una reparación. Tal es el caso de las alergias, de las enfermedades autoinmunes y de otras en donde hace falta que el sistema inmune elimine antígenos extraños y aún propios. [9, 42]

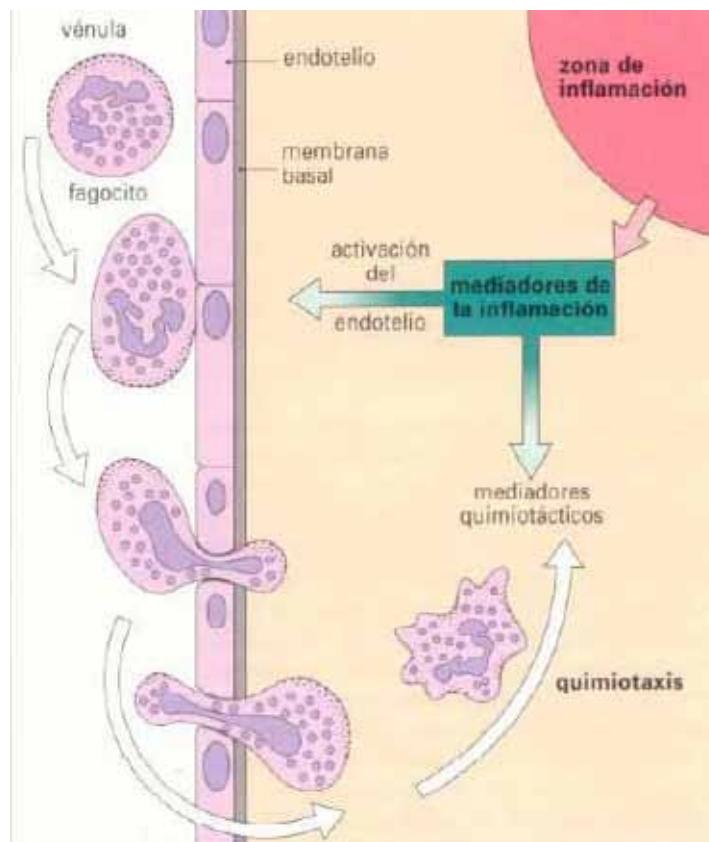


Figura 9. Proceso de Inflamación [139]



La inflamación dilata los vasos sanguíneos y aumenta el flujo de sangre hacia los tejidos cuyas células han muerto o están dañadas. Aumenta asimismo la permeabilidad de los capilares sanguíneos y se caracteriza por una extravasación tanto de líquidos como de células, que abandonan los vasos y se infiltran en el tejido conectivo intersticial. Durante la inflamación, los leucocitos polimorfonucleares, los monocitos y los linfocitos son las principales células que migran fuera de los vasos sanguíneos. Este es un proceso activo que se denomina diapédesis e implica la unión de varios ligandos a sus correspondientes receptores que se encuentran en la superficie de la membrana de las células, tanto de las endoteliales del vaso sanguíneo como de las células de la sangre que van a salir al espacio intersticial. [7, 10, 65]

### 3.1 Inflamación

Cuando está provocada por la presencia de microorganismos patógenos o por las toxinas que éstos producen, la respuesta inflamatoria es indudablemente un mecanismo defensivo que protege al cuerpo contra las infecciones e inicia la reparación estructural y funcional del tejido dañado. En estos casos, las células fagocíticas que salen de los vasos sanguíneos y que están encargadas de eliminar los cuerpos extraños (microorganismos) que se han introducido al cuerpo, son el componente más importante de la inflamación. En otras ocasiones, la inflamación es una respuesta al daño de un tejido y se caracteriza por la liberación de mediadores vasoactivos provenientes del citoplasma de las células que los liberan porque han muerto por necrosis<sup>1</sup>. En estos casos el trabajo de limpieza es lo más importante, como puede ocurrir después de la muerte de neuronas o de músculo cardíaco por falta de oxígeno. Pero en otros casos, la inflamación puede ser perjudicial y depende de la estimulación de las células cebadas (mast cells) y de las plaquetas o de la activación inespecífica, directa o indirecta del sistema complemento (por cristales de ácido úrico, como en el caso de los pacientes con gota). Aunque las células cebadas pueden ser

---

<sup>1</sup> necrosis: Muerte del tejido en el cuerpo y sucede por un suministro insuficiente de sangre al tejido, ya sea por lesión, irradiación o sustancias químicas. <sup>139</sup>



estimuladas por neurotransmisores o agentes físicos y químicos (en las neurodermatitis y por los piquetes de insectos, respectivamente), en otros casos estas células son las responsables de las respuestas alérgicas y se degranulan en presencia de los alérgenos y de la respuesta de anticuerpos IgE. La inflamación que acompaña las reacciones alérgicas, lo mismo que la inflamación que caracteriza las lesiones ateroscleróticas de los vasos grandes o la que ocurre alrededor de los depósitos de la proteína beta-amiloide en el cerebro de los enfermos con Alzheimer, también son respuestas de naturaleza defensiva, pero lamentablemente provocan lesiones a través de mecanismos que se conocen como reacciones de hipersensibilidad. [7, 10]

En cualesquiera de estos casos y en otros, la inflamación se caracteriza porque, al salir de los vasos sanguíneos, el plasma se infiltra en el tejido intersticial y provoca la formación de edema, mientras que la vasodilatación aumenta la cantidad de sangre en la zona inflamada y provoca calor y enrojecimiento de la piel. Los cuatro signos característicos de la inflamación son: tumor, rubor, dolor y calor. Cuando la inflamación ocurre en un sitio anatómico que tiene una función importante (una rodilla, por ejemplo) se le añade la incapacidad funcional como una característica más. Otro caso es el de las arterias inflamadas por la aterosclerosis, las cuales tienen disminuido su aporte de oxígeno a los tejidos. En el curso de la inflamación, la extravasación de proteínas plasmáticas facilita la activación de los factores de la coagulación, los del sistema complemento y la generación de numerosos factores quimiotácticos<sup>2</sup> que atraen a los neutrófilos y otras células inflamatorias<sup>7</sup>. Todas estas moléculas contribuyen para que la respuesta inflamatoria sea más efectiva y se pueda eliminar más rápidamente el agente infectante o se pueda sanar más eficientemente el tejido dañado. [114]

Después de iniciar la fase aguda de la inflamación y de la salida de leucocitos polimorfonucleares principalmente, ocurre el reclutamiento de monocitos, macrófagos y linfocitos que se mueven hacia al sitio dañado. Los macrófagos y los monocitos endocitan

---

<sup>2</sup> quimiotácticos: Proceso por el cual los leucocitos son atraídos a la vecindad de los agentes invasores.<sup>139</sup>



y/o matan agentes infecciosos o digieren el material extraño resistente a la acción inicial de los neutrófilos. Dependiendo de la extensión del daño y de la naturaleza del microorganismo patógeno, puede resultar que el tejido regrese a su función y estructura normal inicial, que se forme una cicatriz con alteración en la función del tejido, que la inflamación evolucione hacia la formación de un absceso o que la inflamación persista y se convierta en un proceso inflamatorio crónico. [9]

La clase de evolución que puede tener una respuesta inflamatoria aguda depende de la naturaleza del patógeno, de su resistencia, su tasa de multiplicación o de las toxinas que libera, de la gravedad del daño al tejido y del grado de activación de las células del sistema inmune o de las proteínas que salen de los vasos. Está caracterizada por el movimiento de fluidos, proteínas del plasma y leucocitos al sitio inflamado, todo lo cual va a variar según la extensión de la invasión microbiana y la naturaleza del material foráneo o de los antígenos. [10]

El propósito defensivo de la reacción inflamatoria es contener o eliminar al patógeno y reparar tejidos. Pero su respuesta debe estar modulada para evitar que se dañen tejidos sanos vecinos. Para ayudar a controlar la inflamación y restringirla exclusivamente al sitio donde hace falta, existen múltiples sistemas mediadores que incluyen proteínas solubles en el plasma de la sangre como algunas proteínas de fase aguda, varias hormonas, los inhibidores del sistema del complemento, las citocinas anti-inflamatorias, el sistema de las cininas y varios neurotransmisores anti-inflamatorios como la acetilcolina, el ácido gamma aminobutírico y la glicina. [10]

Durante la inflamación, los mediadores químicos tienen una importancia notable. Ellos son necesarios al comienzo, porque desencadenan la reacción inflamatoria, como es el caso de las citocinas pro-inflamatorias IL-1, INF $\gamma$ , TNF $\alpha$  e IL-12. Pero siempre, a un lado de estas citocinas que facilitan la respuesta inflamatoria, existen varias otras citocinas y mediadores químicos que tienen un efecto contrario, es decir son anti-inflamatorias, como por ejemplo



la IL-6, TGF $\beta$  e IL-10 y los neurotransmisores que se acaban de mencionar en el párrafo anterior. Esas sustancias liberadas por el sistema nervioso y también varias hormonas del sistema endocrino (como los glucocorticoides y los estrógenos) tienen una participación muy importante como mediadores de la retroalimentación negativa del proceso inflamatorio, ya que reducen las actividades de las células que han sido estimuladas. Las citocinas anti-inflamatorias, las hormonas y los neurotransmisores impiden que la respuesta inflamatoria se prolongue más de lo estrictamente necesario o que se extienda más allá de los tejidos dañados. El balance en la producción de estas dos clases de moléculas antagónicas<sup>3</sup> contribuye a modular la reacción inflamatoria y conserva la salud. [10]

### ***3.1.1 Inflamación Crónica***

La inflamación crónica es caracterizada por un incremento prolongado en el número de los macrófagos, linfocitos, células plasmáticas o eosinófilos que infiltran un foco inflamatorio durante meses o años. La persistencia de una lesión, de un material extraño al cuerpo o de un microorganismo que no puede ser eliminado (como *Mycobacterium tuberculosis*, por ejemplo), puede ser una causa de que la respuesta inflamatoria se convierta en un proceso crónico. Lo mismo puede suceder a causa de los depósitos de colesterol en las paredes de los vasos sanguíneos. La reacción inflamatoria crónica puede tener una evolución variable. Por lo general, sucede que pueden ser eliminados los agentes patógenos y, como una consecuencia, el tejido dañado puede ser reparado y regresa a su función y estructura normal. Sin embargo, en otros casos, cuando el patógeno no puede ser eliminado y persiste en el sitio de la inflamación, provoca la activación prolongada de mecanismos inmunes y desarrolla un tipo de inflamación crónica conocida como granulomatosa que se va a prolongar durante cierto tiempo. También puede suceder que, como una consecuencia del proceso inflamatorio crónico, el daño de los tejidos se vuelva irreversible y provoque una activa proliferación de capilares, fibroblastos y demás células del tejido mesenquimatoso, lo cual termina con la pérdida o una disminución de la función del tejido o del órgano. [9]

---

<sup>3</sup> antagónicas: cuando un fármaco se une al receptor para inhibir la acción de un agonista.<sup>139</sup>





Las respuestas mediadas por células pueden ir dirigidas contra autoantígenos (o contra infecciones crónicas no identificadas u organismos comensales que comparten o mimifican los antígenos propios), provocando una inflamación crónica que daña los tejidos. Estos mecanismos han sido propuestos para explicar las lesiones en la artritis reumatoide, la enfermedad de Crohn, la sarcoidosis, la psoriasis y la esclerosis múltiple. Muchas veces no se conoce con certeza el grado relativo de implicación de los posibles agentes infecciosos y de la autoinmunidad subsiguiente, como ocurre en el caso de la destrucción de los islotes de Langerhans del páncreas que conduce a la diabetes insulino dependiente. [65]

Como se puede observar, la respuesta inflamatoria no solamente es un proceso sumamente complejo que depende de numerosas causas, se inicia a través de diversos mecanismos y se modula mediante diferentes agentes, sino que también algunas veces necesita ser estimulada, mientras que otras veces hace falta inhibirla. En estos últimos casos, las razones son varias. Puede ser que el paciente necesite calmar el dolor que provoca la inflamación o recuperar la función de un sistema que, mientras esté inflamado, no le permite moverse, lo mantiene incapacitado o le disminuye la irrigación sanguínea y el suministro de oxígeno en los tejidos, que disminuyen sus funciones, como sucede en el caso de la aterosclerosis. La lucha contra el dolor y la incapacidad funcional son los principales objetivos de la terapéutica anti-inflamatoria. Pero estos tratamientos tienen que estar dirigidos lo más específicamente posible, para actuar sobre el mecanismo responsable. Por ejemplo, los anti-histamínicos o los inhibidores del sistema complemento o los bloqueadores de los receptores para interleucinas pro-inflamatorias o los inhibidores de sus factores de transcripción, etc., tienen un objetivo particular y no resultan de utilidad en cualquier respuesta inflamatoria. En el caso de los antihistamínicos, ellos solo tienen efecto cuando se administran a los alérgicos que liberan un exceso de histamina. [9, 10]

Para poder llevar a cabo el tratamiento de la inflamación según una estrategia lo menos peligrosa y lo más eficiente posible, ha sido necesario esperar los resultados de numerosas investigaciones que, en los últimos años, han ido revelando las bases moleculares de la



respuesta inflamatoria. Por supuesto que todavía no se conocen todas ellas, pero actualmente ha aumentado considerablemente nuestro conocimiento sobre las principales moléculas que están involucradas en los procesos inflamatorios. [10]

Una de esas moléculas es el MyD88, que tiene una actividad casi indispensable para el inicio de la síntesis de las citocinas pro-inflamatorias y, además, para que sus efectos se lleven a cabo. El MyD88 se encuentra asociado a varios receptores de membrana que se estimulan en el curso de infecciones, pero también está asociada a varios receptores más, al comienzo de las vías de señalización que inducen la síntesis de algunas de las citocinas pro-inflamatorias más potentes. Por esa razón, en los incisos siguientes se presenta una breve descripción del más importante de ellos, conocido como el receptor parecido a la molécula Toll de las moscas. Posteriormente, se describirán las características de una de las proteínas, la MyD88, que se encuentran acopladas al mismo. [32]



#### 4. INTERLEUCINA 1

Esta citocina es producida por monocitos, macrófagos, células dendríticas y otras células que se activan al comienzo de la respuesta del sistema inmune. Inicialmente, se describió su actividad en cultivos remanentes de monocitos humanos, donde se encontró que promovía la proliferación a timocitos. Hace años, a la molécula responsable de esta actividad se le denominó Factor de Activación Linfocítica (LAF), que posteriormente se identificó como la interleucina 1. En los humanos, el gene que codifica esta citocina se encuentra en el cromosoma 2. [1, 14, 15]

La IL-1 es un pirógeno<sup>1</sup> endógeno que causa fiebre porque incrementa las cantidades de prostaglandinas E (PGE<sub>2</sub>) que actúan sobre el hipotálamo. La IL-1 es una citocina pro-inflamatoria debido a que tiene la habilidad de estimular la transcripción de los genes asociados con la inflamación. Una de sus propiedades más importantes es que estimula la formación de la ciclooxygenasa tipo 2 (COX-2) y la fosfolipasa A tipo 2, provocando un aumento en la síntesis de prostaglandinas. Además, induce la síntesis de óxido nítrico y también incrementa la expresión de moléculas de adhesión intercelular. [8]

La IL-1 también estimula la proliferación de los linfocitos T. Adicionalmente, aumenta la salida de neutrófilos de la médula ósea y es responsable de la acumulación de los neutrófilos en los tejidos. Krane y Dayer encontraron que en la artritis reumatoide la IL-1 es un inductor de la colagenasa, mientras que Saklatvala encontró que tenía la propiedad de destruir el cartílago. [40]

Una excesiva producción de esta citocina pro-inflamatoria puede tener consecuencias patológicas, ya que sus propiedades catabólicas necesarias para comenzar a movilizar los mecanismos de defensa de la respuesta inmune contra las infecciones pueden

---

<sup>1</sup> pirógenos: Factor producido por macrófagos y otras células. Causa fiebre por reducción de prostaglandinas en el Hipotálamo.<sup>139</sup>



eventualmente dañar al hospedero. Un ejemplo del deterioro que causa la IL-1 es la artritis reumatoide. La capacidad para poder llevar a cabo sus efectos requiere de una regulación de su receptor específico por medio del antagonista de su receptor (IL-1Ra). [39]

Existen dos diferentes tipos de IL-1, que tienen estructura y peso molecular diferentes y que han sido denominadas  $\alpha$  y  $\beta$ . Ambas son sintetizadas por monocitos en respuesta a señales de activación. Se diferencian por su peso molecular y distinto punto isoeléctrico. La estructura en tercera dimensión de la IL-1 $\alpha$  es muy similar a la  $\beta$ . En cada una de ellas el péptido se pliega hasta tener una forma de barril abierto con una escalera  $\beta$  plegada. La IL- $\alpha$  tiene dos sitios de unión al receptor. [70]

#### ***4.1 Acción de la IL-1***

La IL-1 es producida por muchos tipos celulares en respuesta a lesiones, infecciones o antígenos. Influye en muchas células y procesos. Así por ejemplo, 1) aumenta la actividad citotóxica de las células NK; 2) activa metabólicamente a los PMN, que se mueven hacia el sitio de producción de IL-1 mediante quimiotaxis<sup>2</sup> (flechas negras en la figura siguiente); 3) induce la expresión de moléculas de adherencia y procoagulantes a un nivel endotelial, aumentando la permeabilidad capilar; 4) aumenta la producción de prostaglandinas y citocinas y la actividad citotóxica de los macrófagos, al mismo tiempo que estimula la quimiotaxis de los monocitos (flecha negra); 5) también estimula la proliferación de linfocitos T<sub>H</sub>, la expresión del receptor de IL-2 y la producción de citocinas; 6) estimula la proliferación de linfocitos B y su capacidad para convertirse en células presentadoras de los antígenos que han reconocido; 7) su producción está regulada por otras citocinas (ver figura 10). [42, 96]

---

<sup>2</sup> Quimiotaxis: Proceso por el cual los leucocitos son atraídos a la vecindad de los agentes invasores.

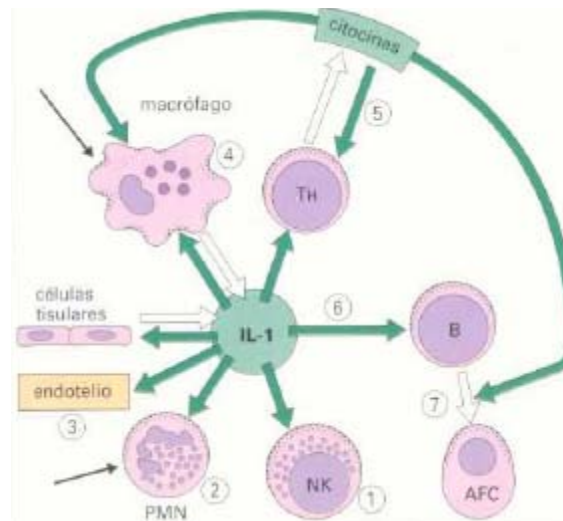


Figura 10 Acciones de la IL-1 [139]

#### 4.2 El Receptor de la IL-1

Los receptores de las citocinas se dividen en cuatro familias, siendo la familia IV a la que pertenece este receptor. Los miembros de la familia de receptores de la IL-1 están codificados por nueve genes distintos. [13]

TABLA 4 Nomenclatura de la familia de los receptores de la IL-1 [13]

Nombre	Abreviación	Ligando
IL-1RI	IL-1R1	IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1Ra
IL-1RII	IL-1R2	IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1Ra
IL-1R Ac-P	IL-R3	IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$
ST2/Fit-1	IL-1R4	no encontrado
IL-8R $\alpha$ /IL-1Rrp1	IL-1R5	IL-18
IL-1Rrp2	IL-1R6	IL-1 $\epsilon$ , IL-1 $\delta$
IL-1R18 $\beta$ /IL-1RAcPL	IL-1R7	IL-18
IL-1RAPL	IL-1R8	no encontrado
IL-1R9	IL-1R9	no encontrado



El efecto de la IL-1 está mediado por receptores específicos en la membrana plasmática. Para la IL-1 existen dos tipos de receptores, el de tipo I que transduce la señal a la célula blanco, y el de tipo II. [40]

*El receptor **tipo I** de la interleucina-1.* En el primer estudio específico de los receptores de IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , se identificó una glicoproteína de 80 KDa en linfocitos T y se la denominó IL-1RI. [11-14] El segmento extracelular del IL-1RI y de los miembros más cercanos de la familia de receptores de la IL-1 tienen 3 dominios de inmunoglobulinas, sin embargo el IL-1RI es único ya que contiene un dominio de homología Toll. Este dominio posee aminoácidos con secuencias relacionadas a las que dan los genes hallados en la proteína Toll de la *Drosophila*<sup>11</sup>. La homología con el dominio de las proteínas Toll también se halla en el dominio citoplasmático de todos los miembros de los receptores TLR, los cuales reconocen endotoxinas, peptidoglicanos, ácido teicoico y otros productos microbianos en células de mamíferos.[16] En mamíferos la homología del dominio Toll con IL-1R es necesaria para transmitir la señal. [17]

Por muchos años se creyó que la señal de transducción de la IL-1 se iniciaba con un simple cambio en IL-1RI. En 1995 Greefender encontró que la señal de transducción de la IL-1 es iniciada por la formación de un heterodímero y por la unión del complejo IL-1RI/IL-1 a un segundo receptor; ahora llamado IL-1R-AcP. La formación del heterodímero de IL-1RI con IL-1R-AcP resulta de la aproximación física del dominio de homología Toll citoplasmático. El receptor de la IL-1 se encuentra en la superficie de la membrana de las células, en las cuales puede tener una densidad de aproximadamente 5000 receptores/célula. [1, 8]

*El receptor **tipo II** de la IL-1 $\beta$ .* El IL-1RII la IL-1 $\beta$  se expresa preferentemente en la membrana de los linfocitos B. Es una proteína que tiene tres segmentos. Uno extracelular que consta de 3 dominios de inmunoglobulinas, otro transmembranal y finalmente uno



pequeño citoplasmático. [18] El dominio citoplasmático no es importante para iniciar la señal de transducción debido a que no tiene dominio de homología Toll. Debido a esto, cuando la IL-1 se une a este receptor no se produce señal. Es por lo tanto un receptor señuelo. [18]

#### ***4.4.3 Cascada de señalización citoplasmática***

Como se menciona anteriormente, la señal de transducción de la IL-1 depende de la formación de un heterodímero entre el IL-1RI y el IL-1R-AcP. Esta interacción recluta a la proteína acopladora MyD88 (factor 88 de diferenciación mieloide), lo cual va seguido por la activación de la enzima IRAK (cinasa asociada al receptor de la IL-1).[23-26] La señalización continúa con la fosforilación y activación de TRAF6 (factor asociado al receptor para TNF), que activa a TAK-1 (cinasa activada por TGF $\beta$ ) y finalmente la activación de NIK (la cinasa inductora del NF $\kappa$ B) y de IKK (cinasa del I $\kappa$ B) y la fosforilación del inhibidor del factor kappa-B (I $\kappa$ B), cuya disociación permite la activación del NF $\kappa$ B. [23-26, 31]



## 5. RECEPTORES TLR e IL-1R

### 5.1 Receptores Toll-like (TLR)

Originalmente las proteínas Toll se identificaron en las moscas como un receptor transmembranal necesario para mantener la polaridad dorsoventral en el embrión en desarrollo de la *Drosophila*<sup>1</sup>. Más adelante se descubrió que Toll también podía actuar como un receptor de membrana que se unía a los productos de hongos y que activaba mecanismos defensivos de las moscas. Un año después se encontró el primer homólogo de esos receptores en humanos, los cuales fueron nombrados Toll-like Receptor (TLR). Posteriormente fueron identificadas varias moléculas más que también resultaron homólogos del TLR inicial. Además, los TLR también fueron encontrados en los vegetales. Actualmente, los receptores TLR forman una gran familia de proteínas que son compartidas por plantas, insectos y animales vertebrados y que reconocen numerosas moléculas asociadas a microorganismos patógenos (PAMPs). [3, 11]

Los TLR tienen un papel fundamental en la inmunidad innata y adaptativa. Están presentes en diferentes tipos de células incluyendo macrófagos, células dendríticas, células endoteliales, células cebadas, eosinófilos, neutrófilos, linfocitos B, células epiteliales, miocitos cardiacos y adipocitos. Cada vez que los productos de patógenos se unen a los TLR, se inician reacciones enzimáticas que activan factores de transferencia que participan en la síntesis de citocinas pro-inflamatorias, quimiocinas y óxido nítrico. Para que la unión de los PAMP con los TLR resulte en un aumento en la producción de citocinas proinflamatorias, los receptores deben estar asociados a una serie de proteínas diferentes, que se conocen como proteínas adaptadoras, de las cuales depende la activación de varios factores de transcripción. Hasta hoy se conocen 13 diferentes tipos de TLR. [4]

El conjunto de proteínas acopladoras que se activan después de la unión de los PAMP con los TLR reúne una serie de moléculas diferentes. El MyD88 es una de ellas. Otras

<sup>1</sup> *Drosophila*: especie de mosca.<sup>137</sup>

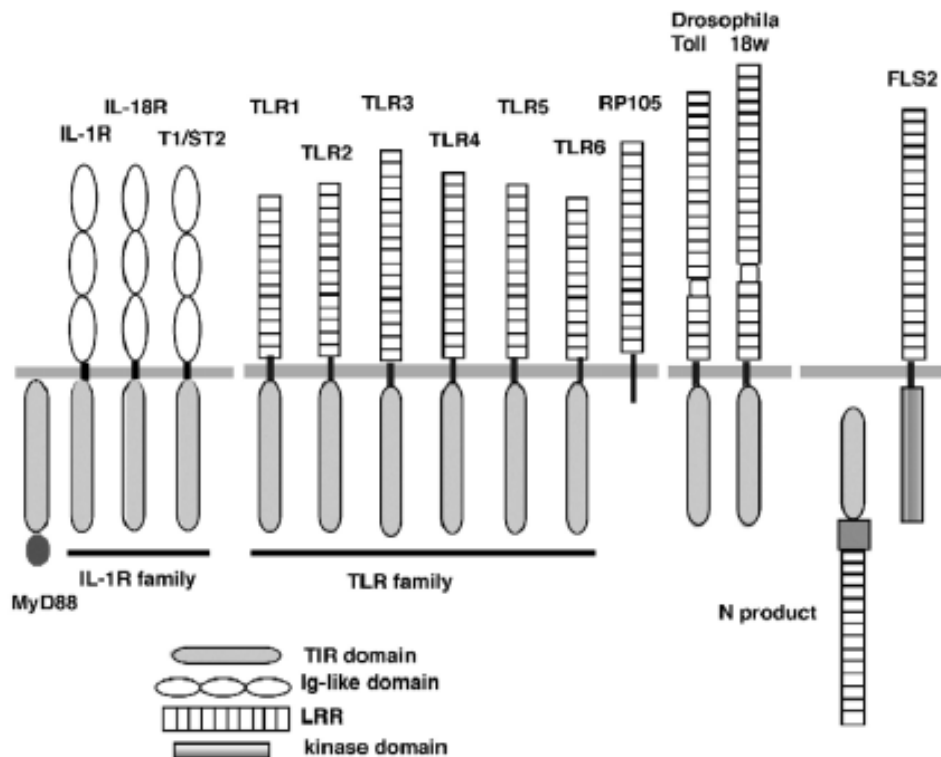




llamadas cinasas asociadas a los receptores para la IL-1 (IRAK) (formadas por 1-4 y M), son las responsables de mediar la señal entre MyD88 y el factor asociado al receptor para el TNF (TRAF6). Cada miembro IRAK tienen una función única en la cual media la respuesta inmune, IRAK-4 es requerida para la inmunidad innata. [4]

### 5.1.1 Estructura de los TLR

Cada uno de ellos está formado por una cadena peptídica que puede encontrarse semi-hundida en las membranas, plasmática o nuclear, de la célula. La región extracelular de los TLR contiene regiones ricas en leucina y el dominio carboxilo-terminal es rico en cisteína, pero su composición de aminoácidos varía según sean diferentes sus correspondientes ligandos. La región intracelular o citoplasmática es similar en todos los TLR y contiene un dominio proteolítico PEST y un dominio inhibitorio C-terminal. [30] La región citoplasmática contiene dominios que tienen una fuerte homología con el receptor-1 de la interleucina 1 (IL-1R1) (ver figura 11). [28, 29]





### 5.1.2 Clasificación de los TLRs *Figura 11 Estructura de los principales TLRs* [140]

Los TLR se clasifican en grupos según el tipo de PAMP que reconocen (exotoxinas, endotoxinas o ácidos nucleicos de microorganismos patógenos, por ejemplo). También pueden ser clasificados en dos grupos según su localización. En este caso el primer grupo incluye a TLR1, 2, 4, 5 y 6 los cuales se encuentran en la membrana plasmática, mientras el segundo grupo incluye a TLR3, 7, 8 y 9 que se localizan intracelularmente en las membranas nucleares o de los endosomas. [27] A continuación se describen brevemente algunas características de los principales TLR.

#### **TLR4**

TLR4 tiene componentes extracelulares como MD-2 y CD14 que reconocen LPS de bacterias Gram-negativas, que son las responsables del shock séptico. La estimulación de este receptor provoca un aumento en la producción de citocinas pro-inflamatorias. Este receptor también es el encargado de estimular la síntesis de algunas proteínas de choque térmico, como la HSP60 que ha sido involucrada en los mecanismos de la inflamación que acompaña a la arterosclerosis. Se ha encontrado que la HSP60 inducida por clamidias activa células de músculo liso vascular y macrófagos a través del TLR4. [3]

La vía de señalización de TLR4 requiere varias proteínas citoplásmicas acopladoras, entre las cuales se encuentra la proteína MyD88, la cinasa IRAK, el TRAF6 y el TAD-1. El MyD88 tiene una interacción directa con la porción intracitoplásmica del TLR4. [32] Muzio y sus colaboradores demostraron que la sobre-estimulación de TLR4 induce la activación de NFκB que bloquea a TRAF6-DN o NIK-DN, pero no a TRAF-2-DN. [31] Actualmente se conoce que la activación de NFκB a través del TLR4 requiere de MyD88, IRAK-1, TRAF-6 y NIK y, como un resultado, estimula la síntesis de las principales citocinas pro-inflamatorias. [34]



Miyake y sus colaboradores identificaron MD-2 como una proteína que ayuda a la función de TLR4. [34] MD-2 es una proteína secretada que se localiza en el dominio extracelular de TLR4 y funciona como estabilizante de los dímeros de TLR4. Cuando se co-transfecta con TLR4 a células HEK-293, el MD-2 incrementa la activación de NFκB en respuesta a los LPS que se unen al TLR-4 y por lo tanto aumenta la producción de las citocinas proinflamatorias. Sin embargo Yang et al. [35] demostraron que la co-expresión de MD-2 y TLR4 aumenta la fosforilación de las MAP cinasas ERK, JNK, y p38 y su actividad en respuesta a los LPS. Estos estudios también demostraron que la expresión simultánea de TLR4 y MD-2 es necesaria para que los LPS activen la vía de las MAP-cinasas, estimulen Elk-1 y activen el NFκB. [33]

### **TLR1, TLR2 y TLR6**

Son receptores que reconocen en general lípidos. El TLR2 reconoce numerosos componentes de microorganismos como lipoproteínas de bacterias gramnegativas, micoplasma y espiroquetas; peptidoglicanos y ácidos lipoteicoicos de bacterias grampositivas, lípidos de micobacteria, glucoinositolfosfolípidos de *Trypanosoma cruzi*, modulina de *S. epidermidis*, zymosán de hongos y porinas de la membrana externa de neisserias. Además, el TLR2 reconoce formas atípicas de LPS en contraste con el TLR4 que sólo identifica LPS de *E. coli* y de especies de Salmonella. El peptidogluano y la modulina secretada por *S. aureus* son ligandos del TLR2 que inducen la producción de factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α). El TLR6 colabora funcionalmente con el TLR2 en el reconocimiento de lipopéptidos microbianos. [3, 52]

El TLR2 forma heterodímeros con TLR1 y TLR6, TLR1/2 y TLR 6/2 pueden discriminar triacil y diacil-lipopéptidos respectivamente. El TLR10 es heterodimerizado por TLR2 y TLR1; sin embargo el ligando para estos heterodímeros aun no se conoce. [27]

### **TLR5**



Este receptor al igual que TLR11 tienen como ligando proteínas de microorganismos y se expresa abundantemente en la membrana de las células del intestino. TLR5 reconoce a la flagelina de *Listeria monocytogenes*, que es el componente principal de los flagelos que permiten el movimiento de esta bacteria gram-negativa en su medio acuoso. También participa en la fijación del microorganismo a las células del huésped contribuyendo así con su virulencia. [3]

### **TLR3**

Se encuentra localizado intracelularmente pues detecta ácidos nucleicos derivados de virus y bacterias. TLR3 reconoce RNA de doble cadena.

La estructura del TLR3 es única ya que carece de residuos de prolina, abundantes en los demás TLR. Además, se expresa preferencialmente en células dendríticas maduras, por lo que es razonable pensar que tiene otras funciones importantes. [3]

### **TLR7, TLR8 y TLR9**

El TLR9 se encuentra en el interior de las células a diferencia de TLR1, TLR2 y TLR4. El TLR7 y el TLR8 son muy parecidos al TLR9. El TLR7 reconoce moléculas sintéticas de imidazoquinolina, RNA de una sola cadena y análogos de guanosina como loxoribina. Todo esto los hace de importancia terapéutica. El TLR8 tiene gran homología con TLR7 y reconoce imidazoquinolina y al RNA de una sola cadena que regularmente se expresa en células T. Aunque aún no se identificaron los ligandos para TLR9, se cree que participa en la discriminación de estructuras similares a ácidos nucleicos en los microorganismos, tal como ocurre con la subfamilia del TLR2 cuyos miembros distinguen distintas. [3, 27, 61]

#### **5.1.3 Vía señalización de los TLR**

Después del reconocimiento de PAMPs, los TLRs activan intracelularmente una vía de señalización que induce la expresión de los genes de las citocinas pro-inflamatorias como



TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 e IL-12. El reconocimiento de PAMPs por TLRs estimula el reclutamiento del dominio TIR intracelular conteniendo adaptadores que incluyen la proteína MyD88. El MyD88 es una proteína adaptadora universal que activa la vía inflamatoria que es utilizada por los TLRs, a excepción de TLR3. Todos los TLR al igual que el receptor de la IL-1, tienen un dominio TIR que interactúa con la proteína MyD88. El reclutamiento de MyD88 puede llevar a la activación de la cinasa MAP (ERK, JNK, p38), y de NF $\kappa$ B que controla la expresión de los genes de las citocinas inflamatorias. Pero es necesario aclarar que no siempre que se activa el factor NF $\kappa$ B se estimula solamente la producción de citocinas pro-inflamatorias. La activación de esta vía de señalización a través del NF $\kappa$ B puede conducir a que la célula estimule otras funciones. TIRAP media la activación de MyD88 en las vías de activación a través de TLR2 y TLR4. Mientras TRIF es reclutado por TLR3 y TLR4 y activan así una vía alternativa, la cual también termina en la activación de NF $\kappa$ B. [27]

La señal que se genera por la unión de los PAMPs a sus respectivos TLR involucra a cinco familias de proteínas adaptadoras, que se acoplan a cinasas y termina en la activación de NF $\kappa$ B, IFN e IRF. Los TLR tienen un dominio TIR que se encuentra localizado en el citosol. Similar a los TLRs existen adaptadores que han conservado esta región. Estos adaptadores son MyD88, MAL, TRIF, TRAM y SARM (ver Figura 12).

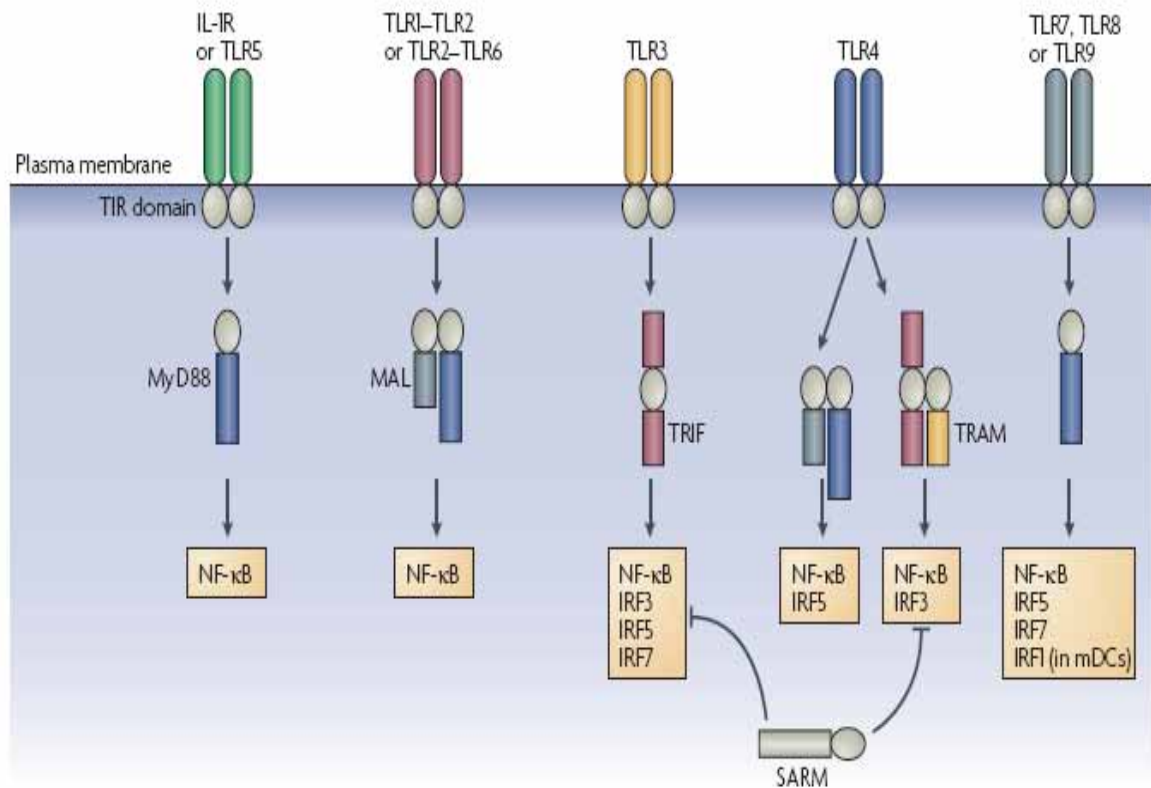


Figura 12 Proteínas acopladoras. [141]

### 5.2 Vías de señalización activadas por TLR2

El ALT que se encuentra en la superficie de las bacterias gran-positivas se asocia a la membrana de las células del hospedero por medio de los receptores TLR2 de esta última, pero también a través de los TLR1/6 y CD14. A partir de estos eventos se inicia la activación de algunas cinasas de la familia de las MAPK (ERK1/2, JNK y p38) y de la PI3K además de algunos factores de transcripción (ATF; C/EBP, CREB, NF-κB). [5, 122]

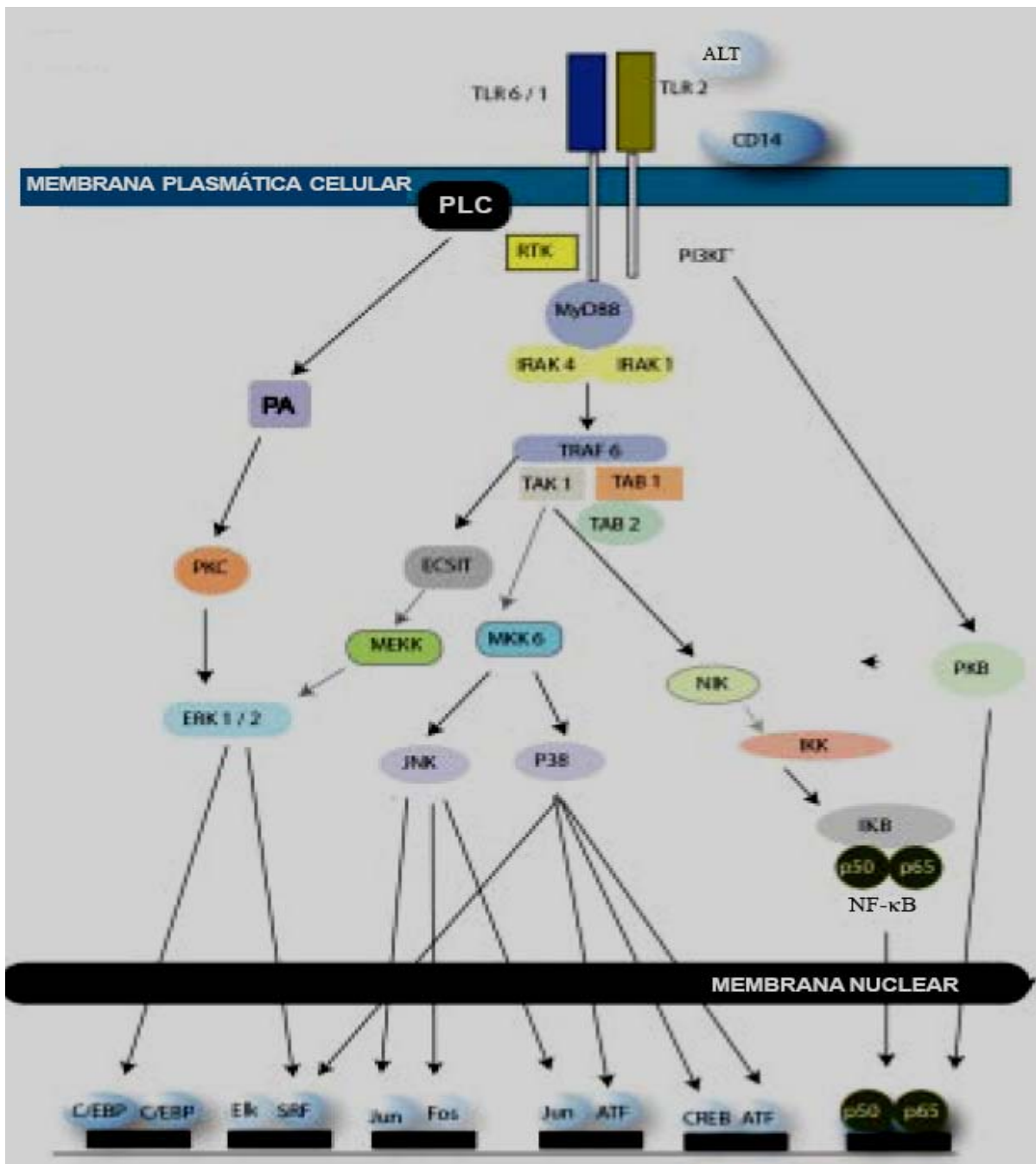


Figura 13 Vía de señalización del TLR2. [143]

ALT, ácido lipoteicoico; TLR, receptor semejante a Toll; PLC, fosfolipasa C; PKB, proteína cinasa B; PKC, proteína cinasa C; PI3K, fosfatidilinositol 3 cinasa; RTK, receptor con actividad de cinasa de residuos de tirosina; MyD88, factor de diferenciación mieloide; IRAK, cinasa asociada al receptor de interlucina 1; TRAF, factor de receptor activado; TAK1 cinasa activada por factor de crecimiento transformante; TAB, proteína de asociación a TAK1; MAPK, proteína cinasa activada por mitógeno; MKK, MAPK-cinasa;



MEKK, MAPK-cinasa-cinasa; ERK1/2, cinasa de respuesta a señales extracelulares; JNK, cinasa N terminal de Jun; I $\kappa$ B, inhibidor de kappa B ; IKK, cinasa de I $\kappa$ B; ECSIT, intermediario conservado evolutivo en la vía de Toll; C/EBP, proteína de unión y aumento de CCAAT; CREB, proteína de fijación del elemento de respuesta a AMP cíclico; SRF, factor que responde a suero; ATF, factor de activación de transcripción.

Sin duda alguna las septicemias que están asociadas a la falla de múltiples órganos y sistemas enzimáticos son un problema de salud pública que ocasiona una alta morbilidad<sup>2</sup> y mortandad<sup>3</sup>. Por mucho tiempo los LPS de las bacterias Gram-negativas se han considerado como las moléculas responsables, las que desencadenan la respuesta inflamatoria que se presenta en las etapas tempranas de la septicemia. Sin embargo, los estudiosos de este tema han comenzado a focalizar su atención en dos componentes bacterianos tales como los peptidoglucanos y el ALT y sus efectos como moléculas promotoras de la inflamación que se presenta al inicio de la sepsis. Los péptido-glucanos y el ALT actúan como ligandos de los receptores TLR- 2 y aunque ambos agentes inducen la expresión de moléculas pro-inflamatorias, finalmente se ha demostrado que estos dos ligandos producen respuestas biológicas diferentes. [37, 120, 122]

### ***5.3 La función de los TLR en la señalización inducida por LPS***

El antígeno de membrana CD14 ha sido reconocido durante muchos años como el principal receptor para los LPS de las bacterias gran-negativas. El CD14 se encuentra principalmente en la membrana de macrófagos, monocitos, células dendríticas y neutrófilos. [37] El CD14 es un glicofosfatidilinositol que une el dominio transmembranal con el intracelular. Numerosos estudios sugieren que CD14 está asociado con distintas señales de transducción de proteínas transmembranales, particularmente aquellas asociadas a los TLR4. Sin embargo, recientemente dos grupos independientemente de investigadores han reportado que cuando se une a los LPS, el TLR2 también puede funcionar como una señal de transducción de varias proteínas, en presencia de CD14 y LBP. [27, 35, 36]

<sup>2</sup> morbilidad: Cantidad de personas afectadas por cierta enfermedad.<sup>139</sup>

<sup>3</sup> mortandad: Número de muertes que se producen en una determinada población.<sup>139</sup>





Los TLR2 aparecen como mediadores de la señal intracelular de los LPS, la cual se inicia por la unión de los LPS con CD14. El rol de TLR2 en humanos es como receptor de los LPS. Flo y sus colaboradores, recientemente reportaron que un anticuerpo que reconoce TLR2 no puede bloquear la activación de NF $\kappa$ B a través de la estimulación por LPS que aumentan la producción de TNF $\alpha$  en monocitos de humanos. El TLR2 endógeno tiene una actividad fisiológica relevante en la respuesta a los LPS en las células de humanos, in vitro o in vivo. [27, 36, 37]

#### ***5.4 Importancia de los TLR***

Recientemente se ha revelado que los TLR se encuentran controlados por varios mecanismos que modulan las respuestas de las células contra diversos patógenos. Primero los TLRs utilizan diferentes moléculas adaptadoras, las cuales activan diferentes factores de transcripción específicos para la respuesta inmune innata. Segundo diversos TLRs se expresan en compartimientos extracelulares que detectan ácidos nucleicos derivados de patógenos, pero también existen otros TLR que detectan la localización intracelular de las mismas u otras moléculas derivadas de patógenos, y que tienen la capacidad de discriminar entre los ácidos nucleicos derivados de microorganismos y los que no lo son. La localización intracelular de dominio TIR contiene adaptadores que son importantes para determinar la respuesta específica. Tercero la expresión de los TLR sobre las membranas está controlada por numerosos reguladores que determinan la respuesta inmune inflamatoria y previenen cualquier exceso en la respuesta inflamatoria mediada por citocinas. Es claro que la función de los TLR es por mucho benéfica para el hospedero, sin embargo la activación aberrante de éstos, o su localización anormal en la membrana celular pueden ser perjudiciales para el hospedero y algunos los han relacionado como responsables de la aparición de enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico (SLE). [27]



### ***5.5 Homología de los TLR e IL-1R (TIR)***

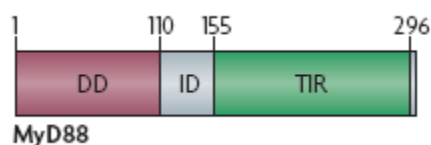
La vía de transducción del sistema Toll de *Drosophila* es similar a la vía del receptor para la IL-1 (IL-1R) en las células de los mamíferos, que se asocia con la activación del factor de transcripción NF $\kappa$ B el cual estimula producción de citocinas que participan en la respuesta del sistema inmune y en el proceso inflamatorio. El dominio intracitoplasmático del TLR y del receptor para IL-1 son muy parecidos en los mamíferos, por lo que se habla de una familia de receptores TLR/IL-1R (TIR).

La evidencia que se han acumulado en los últimos años muestra que IL-1R y TLR contienen porciones de los mismos componentes de transducción incluyendo el dominio negativo (DN) que participa en la señal de transducción de IL-1 inhibiendo la señal de los TLR. [12-13]



## 6. Proteína MyD88

La proteína-88 de diferenciación mieloide (MyD88) es una molécula adaptadora localizada en el citoplasma de las células y relacionada con la familia de receptores TLR/IL-1R. Tiene 296 aminoácidos, con una masa teórica molecular de 33.2 KDa. Está compuesta por un dominio de muerte N-terminal (DD), una región intermedia (ID) y un dominio TIR C-terminal. [10] La información para su síntesis está codificada en 5 exones<sup>1</sup> y 4 intrones<sup>2</sup>. El exón 1 codifica para el dominio DD y va desde el aminoácido 1 hasta el 109, el segundo exón codifica para el dominio ID y va del aa 110 al 155 y el tercer exón codifica el dominio TIR y va del aa 156 al 296. [19-22]



*Figura 14* El gene del MyD88. [141]

MyD88 es una proteína soluble intracelular, necesaria para activar el dominio TIR de IL-1R o de TLR, e iniciando así la activación de NFκB. Esta proteína interviene en forma crítica en la respuesta de las células al estímulo de la producción de IL-1 en respuesta a los LPS. [32]

### 6.1 Descubrimiento de MyD88

En 1990 se nombró al MyD88 como una proteína que se inducía durante la diferenciación terminal de los precursores mieloides de MID<sup>+</sup> en respuesta a la IL-6. Se le dio el nombre de MyD, que proviene de la diferenciación mielodíe y el 88 se refiere al número del gen en la lista de genes inducido. Para 1997 la función del MyD88 ya se había descubierto, y fue la primera proteína que se demostró estaba implicada en la señal del IL-1R [43, 44] y subsecuentemente en la señal de varios TLRs, [45, 46] esto se comprobó con ratones deficientes de MyD88. [44, 45] Lo que se observó en estos ratones es que no tuvieron

<sup>1</sup> exones: región de un gen que codifica proteína.<sup>137</sup>

<sup>2</sup> intrones: segmento de un gen no codificador de proteínas situado entre exones.<sup>137</sup>



respuesta al ser estimulados con los ligandos para TLR2, TLR4, TLR5, TLR7 y TLR9. Ahora los diseños de estudios para diversas enfermedades toman en cuenta a los ratones deficientes de MyD88. Estos ratones tienen resistencia al efecto tóxico de los LPS, y son también inmunocomprometidos<sup>3</sup> en términos de su capacidad de luchar con una gama de patógenos (ver tabla 1). La señal dependiente de MyD88 también está involucrada en el rechazo a transplantes. [47, 49]

**TABLA 5** Consecuencias del aumento o la disminución en la expresión del MyD88 en ratones retados con diferentes agentes infecciosos. [48-52]

Adaptador	Infección	Fenotipo
MyD88	<i>Staphylococcus aureus</i>	↓ Supervivencia después de la infección intravenosa
	<i>Plasmodium berghei</i>	↑Carga bacteriana en sangre y órganos ↑Producción de citocinas por macrófagos
	<i>Toxoplasma gondii</i>	Normal Parasitemia y supervivencia ↓IL-12 e IFN $\gamma$ en suero
	<i>Listeria monocytogenes</i>	↓Supervivencia después de la infección intraperitoneal ↑Bacteraemia en el hígado y bazo ↓TNF, IFN $\gamma$ y NO en el suero
	<i>Leishmania major</i>	↓ Resistencia al inoculo en la piel ↓IL-12 mediada por T <sub>H</sub> 1 células de respuesta

## 6.2 Importancia del MyD88

MyD88 tiene una participación importante en la activación de las señales intracelulares que, a través del factor de transcripción NF- $\kappa$ B, se necesitan para aumentar la producción de citocinas pro-inflamatorias en el curso de las infecciones. Los niveles citoplasmáticos de MyD88 regulan fenómenos importantes como la tolerancia endotóxica [23, 24] y los mecanismos de acción de IFN $\gamma$  y del factor de estimulación de colonias de macrófagos-granulocitos (GM-CSF). [26]

<sup>3</sup> inmunocomprometidos: alteración de uno o algunos mecanismos de defensa, fenómeno que lo hace susceptible a infecciones oportunistas.<sup>139</sup>



Los resultados de numerosos experimentos biológicos han revelado que el MyD88 es un elemento pivote en la señal de transducción de la familia TLR/IL-1R.

### ***6.3 Señalización del MyD88***

La vía de señalización de MyD88 ha llegado a ser más compleja de lo que se sospechaba (ver la Figura 15). La activación de NF $\kappa$ B, JNK (cinasa JUN N-terminal) y p38 está ausente en células deficientes de MyD88, durante la respuesta a los TLRs probados excepto en las que expresan TLR4 y TLR3. En ambos casos, esto es debido al uso de un adaptador alternativo TRIF (dominio TIR conteniendo un adaptador de proteína). Los miembros de IRAK son reclutados inmediatamente en la vía de MyD88. Al parecer IRAK4 es la cinasa más próxima a MyD88, que en su turno recluta IRAK1. Una variante del empalme de MyD88 conocido como MyD88s, se ha escrito previamente que previene el reclutamiento de IRAK4 a MyD88 e inhibe la activación de NF- $\kappa$ B. [55, 56] MyD88s carece de un importante interdominio, ya que esta región en MyD88 es la que interactúa con IRAK4. Por tanto el MyD88s es un importante regulador negativo de la señal de los TLRs, y es inducido por LPS como parte de un mecanismo de retroalimentación negativa. Se observó que MyD88s no inhiben la activación de JNK, esto indica que IRAK4 no es requerido para esta señal. [57] IRAK2 e IRAK4 siempre se han encontrado en el complejo MyD88 y por último IRAK-M que tiene un rol inhibitorio ya que previene la disociación de IRAK1 e IRAK4 de MyD88. [50, 53, 54]

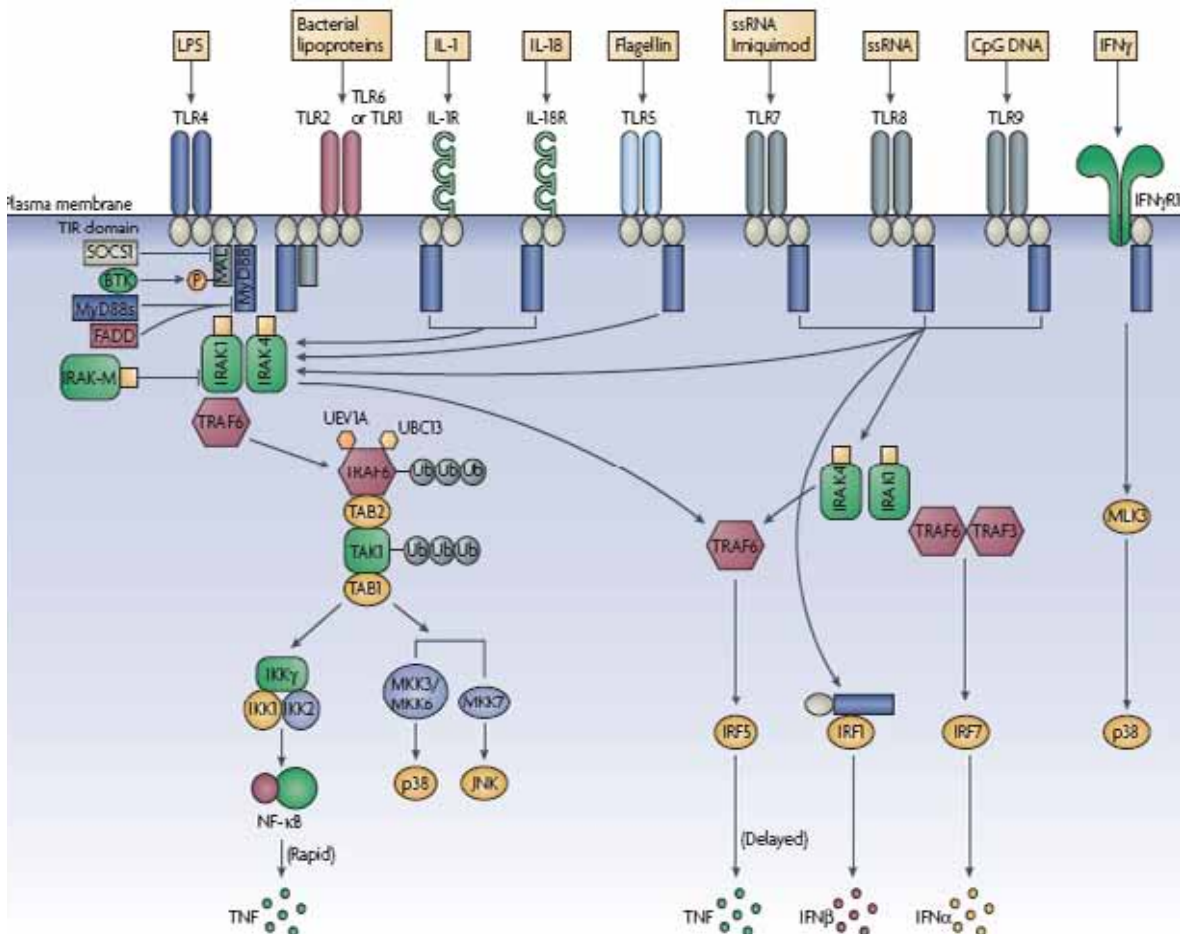


Figura 15 Señalización de MyD88. [141]

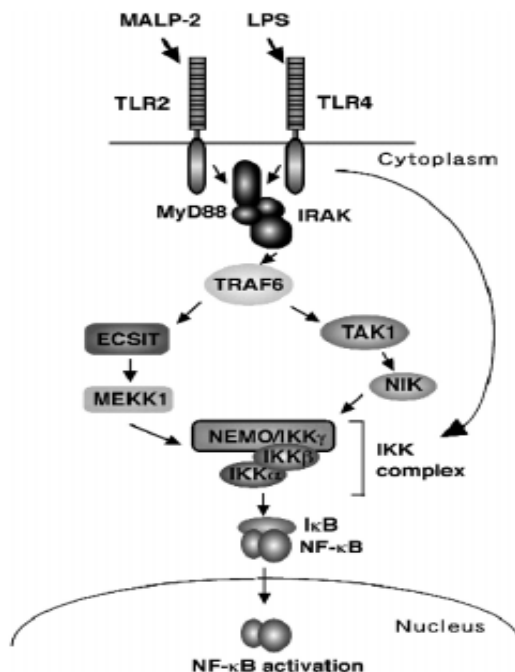
Se piensa que un blanco de IRAK1 para estimular la producción de TNF puede ser la activación de la proteína acopladora conocida como el factor 6 asociado al receptor para TNF (TRAF6), que con el reclutamiento y la transformación de TAK1, y TAK1 unido a TAB2 y los factores de ubiquitinación UBEV1A y UBC13 enganchan la última cinasa para por una parte producir p38 y JNK y por otra unirse a IKK conduciendo a la activación de NFκB. Más recientemente se ha demostrado que CD14 es requerido en la vía dependiente de MyD88 para señalar NFκB. Esto sucede para los ligandos de TLR2-TLR6 y TLR4, aunque cabe señalar que la señal con este último ligando solo se inicia con un subtipo de LPS conocido como liso. [37, 53, 59]



Otros recientes estudios han demostrado que el MyD88 es requerido para la inducción de la producción de IFN-1 de tipo 1 por la estimulación de los receptores TLR7, TLR8 y TLR9 y que, además, es esencial para la activación de IRF7 en las vías de esos TLRs que conducen a la producción de IFN $\alpha$ . [58-60] También se ha detectado un complejo que abarca MyD88, IRAK1, IRAK4, TRAF6 e IRF7, [61] donde IRF7 es fosforilado por IRAK1, lo cual parece ser una función dominante para IRAK1 en el caso de la estimulación de TLR7, TLR8 y TLR9. Para el caso de la estimulación de TLR9 la activación de IRF7 requiere una interacción estable entre MyD88 y el dominio TIR de TLR9. [60] MyD88 interactúa con IRF5 e IRF1 y es requerido para la activación de ambos factores. El IRF5 fue identificado como crucial en la inducción de las citocinas pro-inflamatorias e IFN tipo I después de la estimulación de los TLRs. [62] La asociación de MyD88 con IRF1 es requerida para el desplazamiento de IRF1 al núcleo ya que ésta se requiere para inducir la transcripción de varios genes. IFN $\gamma$  se requiere para inducir IRF1. Otro acoplamiento intrigante es aquel que se da entre MyD88 e IFN $\gamma$  con receptor I. MyD88 recluta MLK3 en esta vía, que activa p38. Lo cual señala un camino alternativo para MyD88 ya que en esta vía no interactúa con el dominio TIR. [115]

#### ***6.4 Experimentos relacionados con MyD88***

Los macrófagos de ratones con una deficiencia de MyD88 no producen citocinas inflamatorias en respuesta a las estimulaciones por LPS, peptidoglicano, lipoproteínas, ADN, CpG y ARN de doble cadena. Varios estudios han demostrado que MyD88 es crucial para la producción de citocinas inflamatorias inducidas por la estimulación de los TLR. Los ratones con deficiencia de MyD88 son sumamente susceptibles a la infección por *S. aureus* mientras que los animales con deficiencia de TRAF-6 responden en forma inadecuada a la IL-1 y al TLR-4. Los ratones con deficiencia de IRAK-1 responden parcialmente a la IL-1 y LPS, mientras que los deficientes en IRAK-4 casi no tienen reacción inflamatoria en respuesta a la IL-1 y LPS. La evidencia en conjunto sugiere que la IRAK-4 también es un componente esencial en la vía de señalización de la IL-1 y del TLR4. [3]



**Figura 16.** Importancia MyD88, el cual resulta crucial para continuar con la vía de señalización de citocinas inflamatorias [144]

Los macrófagos deficientes de UBC13 tienen dificultades para en la síntesis de citocinas inflamatorias después que han sido estimulados con diferentes ligandos de los TLR, lo cual sugiere que este compuesto Ubc13 es necesario para seguir la vía dependiente de MyD88. [27]

Los ratones deficientes de MyD88 han mostrado fallas para activar el NFκB y la cinasa MAP, así como para producir citocinas inflamatorias en respuesta a los ligandos específicos de TLR2, 4, 5, 7 y 9. Los macrófagos MyD88<sup>-/-</sup> siempre tienen fallas en la producción de citocinas inflamatorias en respuesta a LPS, pero éstas desaparecen al activar NFκB y la cinasa MAP, ya que su cinética es muy atrasada. [27]

### 6.5 Vía dependiente de MyD88

Las vías de señalización de MyD88, IRAK y TRAF6 se asocian con la activación del NFκB. El inhibidor de este factor de transcripción (el IκB) mantiene secuestrado al NFκB

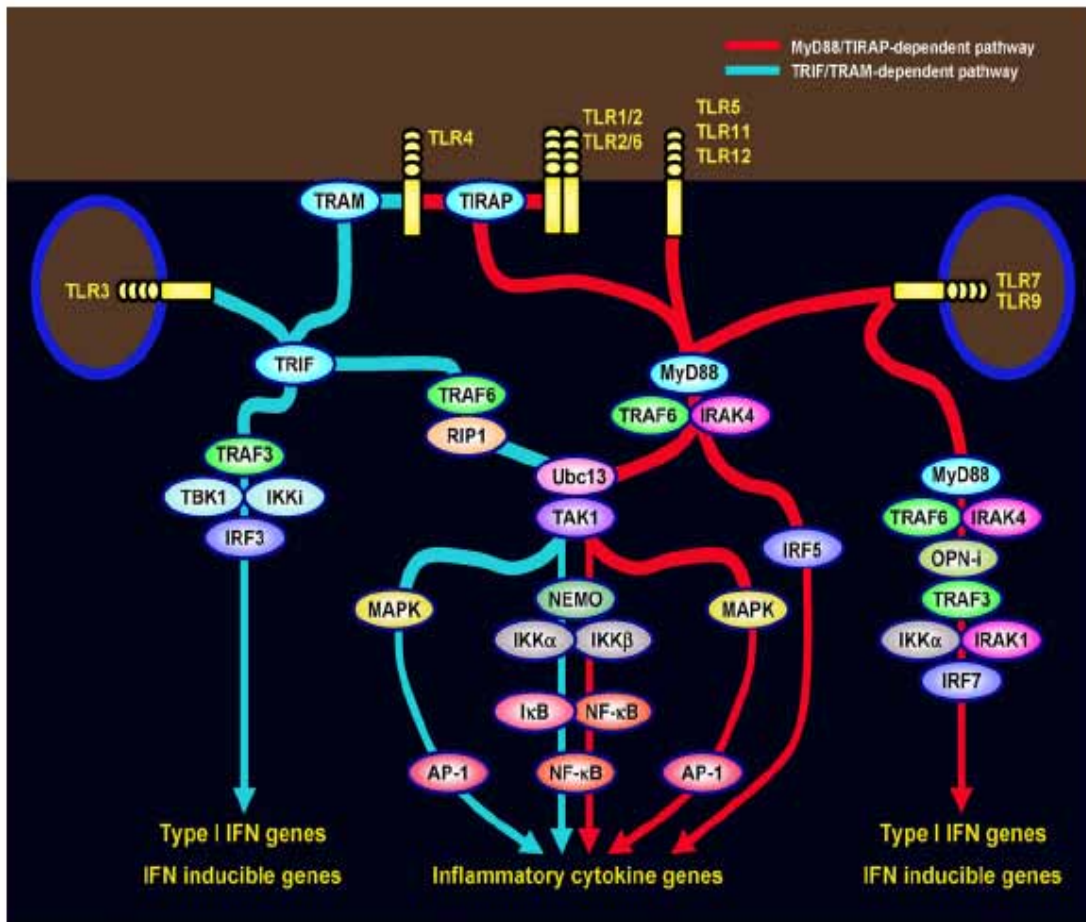




en el citoplasma hasta su fosforilación. Una vez que esto ocurre, el NFκB se separa del complejo, queda activado y migra al núcleo. [38]

Después de varias investigaciones [45, 125] hace algunos años se encontró que cuando la IL-1 se une a su receptor IL-1R1 y forma un complejo con IL-1RAcP, esto conlleva al reclutamiento de la proteína acopladora MyD88 que se asocia con IL-1R1 por su dominio TIR Carboxilo terminal. Una vez reclutado el complejo, el MyD88 activa el receptor de interleucina asociada a cinasa 1-4 (IRAK1-4), lo cual conduce a la fosforilación y disociación de MyD88, que se asocia a TRAF-6, principalmente por la activación de MAP cinasa, p38, ERK1/2 y JNK, todo lo cual termina en la fosforilación de IκB que induce la activación del factor de transcripción NFκB. [123]

Otros estudios han mostrado que la asociación de MyD88 con los TLRs estimula el reclutamiento de los miembros de la familia IRAK incluyendo 1, 2, 3, 4 y M. En particular IRAK4 es indispensable para la activación de la vía dependiente de MyD88. Una vez fosforilado, IRAKs disocia MyD88 e interactúa con TRAF6 y este con E3, formando un complejo Ubc13 e Uev1A que promueve la síntesis de la lisina, que a su vez disocia TAK1, a MAPKKK. TAK1 en combinación con TAB1, TAB2 y TAB3 activan 2 señales involucradas al complejo IKK y a la familia de la cinasa MAP. IKK es necesaria para la degradación de IκB y la subsiguiente translocación nuclear de NFκB que controla la expresión de varios genes de citocinas inflamatorias. [27]



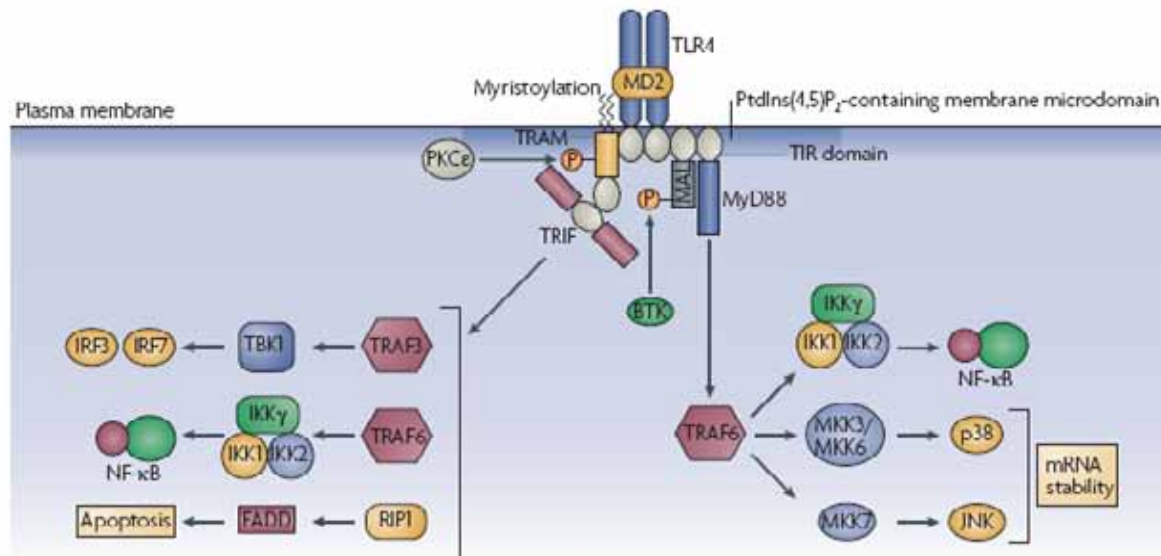
*Figura 17. Vía dependiente e Independiente de MyD88. [145]*

### **6.5 Vía independiente de MyD88**

El MyD88 es esencial para la producción de citocinas inflamatorias en respuesta a una variedad de componentes microbianos, pero algunos investigadores han descubierto que el LPS puede inducir activación del NFκB y de la JNK en macrófagos que no expresan MyD88. [67] Esta observación sugiere que aunque el MyD88 es importante en la producción de citocinas inducidas por LPS, existe otra vía de señalización que no depende de MyD88 y que sería de particular importancia en la señalización a partir del TLR4. Dicha vía también podría activar la transcripción de genes de IFN. [3]



En la figura 18 se observa vía independiente de MyD88 para activar  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  esto sucede en los TLR4 y dependerá del tipo de LPS la vía que siga para activar el factor de transcripción



*Figura 18* Vía independiente de MyD88 [141]

TRAM interactúa con TRIF en el dominio TIR de ambos, esto sucede en la vía de los TLR4 y al final hay una inducción de citocinas por LPS. TRAM es requerido para la inducción de TNF, IL-6, CD86 y un rango de genes dependientes de la activación de IRF3. En recientes estudios se ha encontrado que la región N terminal de TRAM constituida por sitios miristálticos es requerido para que TRAM se asocie a la membrana [63, 64].



## 7. Factor de Transcripción κB (NFκB)

### 7.1 Características

Es un factor de transcripción nuclear que regula la expresión de un gran número de genes como aquellos que regulan la apoptosis, replicación viral, tumorigenesis, inflamación y varios de enfermedades autoinmunes. Esta compuesto por 5 miembros homo y heterodímeros; NFκB1 (p50), NFκB2 (p52), RelA (p65), RelB, y c-Rel (Rel). Asimismo, los 5 miembros de la familia NFκB comparten un dominio de 300 aminoácidos que es conocido como el dominio homólogo Rei que media sus uniones con el ADN, así como, sus dimerizaciones y translocaciones dentro del núcleo.[71-74] El heterodímero formado entre RelA (p65) y p50 es la forma activa mas prevalente, sin embargo, la diversa regulación de los promotores dependientes de NFκB se debe a la habilidad de diferentes dímeros de unirse a los mismos o distintos sitios de NFκB en una manera que es célula específica y estímulo-dependiente. [75, 76]

La activación de NFκB responde a estímulos tales como citocinas, linfocinas, UV, agentes farmacológicos, endotoxinas y otras moléculas de microorganismos y estrés. El estudio de su activación es muy importante hoy en día ya que se ha encontrado que tiene una participación importante en diversas enfermedades como: artritis, asma, inflamación crónica, cáncer y ciertos desordenes neurodegenerativos. [73]

### 7.2 Vía de señalización

El NFκB es un sistema normativo de más de mil años de antigüedad, tiene una rápida acción en células inmunes de mamíferos como respuesta a una infección, inflamación y una serie de otras situación de estrés, tales como las radiaciones ionizantes, También se activa por citocinas inflamatorias, como TNFα y la IL-1 que son liberados por las células cercanas, en respuesta a la infección.[66] El NFκB existe en el citoplasma de casi todas las células de los mamíferos en una forma inactiva debido a la asociación con las proteínas inhibitorias IκB. [66. 78. 79]



Estudios bioquímicos en células de mamíferos y estudios genéticos en moscas han proporcionado importantes conocimientos sobre el funcionamiento de la señalización de NFκB. Las dos subunidades heterodiméricas de NFκB comparten una región de homología N-terminal, que es necesario para su dimerización y unión con el DNA. [67] En las células en reposo, NFκB es secuestrado en un estado inactivo en el citosol directamente vinculado para un inhibidor llamado I-κB. Una sola molécula de I-κB que se une a los dominios N-terminales de cada subunidad p50/p65 encubre las señales nucleares de localización. El punto de convergencia de todas las señales extracelulares que activan NFκB es un complejo proteína llamada Cinasa IκB. [68, 70] Después de la estimulación, los dímeros del NFκB se activan a través de IKK (Cinasa I-κB) que fosforila las dos regiones N-terminal con residuos de serina de I-κB, entonces E3 (ligando) se une a estos residuos fosfoserina y poliubiquitina<sup>1</sup> provocando su degradación inmediata por las enzimas de un proteosoma 26S. [74, 77]

El mecanismo por el cual las citoquinas producen activación del complejo IKK no está todavía definido. Por lo menos dos hipótesis han sido propuestas al respecto: la primera propone que la activación de la familia de la cinasa, MAP cinasa cinasa cinasa (MAPKKK) estimula la actividad de la IKK y la segunda, que la unión de la IKK a los receptores ubicados en la membrana celular resulta en su auto fosforilación y posterior activación. Aunque la activación de la IKK es un evento clave en la vía del NF-κB, la ubiquitinación<sup>2</sup> y la posterior degradación de los múltiples factores que regulan el complejo IKK son también mecanismos cruciales para la regulación de la vía del NFκB. [78-82] En células mutantes que expresan IκB pero que se les ha cambiado el residuo de serina por alanina se ha observado que el NFκB está permanentemente reprimido, lo que demuestra que la fosforilación de I-κB es esencial para activar la vía. [69]

<sup>1</sup> ubiquitina: Proteína pequeña y altamente conservada, presente en todas las células eucariotas que se unen covalentemente a las lisinas de otras proteínas. La unión de una cadena de ubiquitinas marca a la proteína para ser degradada por proteólisis intracelular en un proteosoma.<sup>137</sup>

<sup>2</sup> ubiquitinación: proceso de marcaje de una molécula con ubiquitina.<sup>137</sup>



La degradación de IκB expone una señal de localización nuclear en el NFκB, el cual puede entonces ser transportado dentro del núcleo donde estimula la transcripción de genes específicos. Mas de 150 genes regulados por NFκB han sido descritos, incluyendo aquellos envueltos en inmunidad e inflamación, antiapoptosis<sup>3</sup>, proliferación celular y la retroalimentación negativa de la señal del NFκB. [77] A pesar de su activación por proteólisis, la señalización del NFκB se apaga por un circuito de retroalimentación negativa, ya que uno de los genes cuya transcripción es inducida por NFκB inmediatamente codifica I-κB. El aumento de los niveles de I-κB obliga a NFκB en el núcleo a volver al citosol. [69] La degradación de IκB expone una señal de localización nuclear en el NFκB, el cual puede entonces ser transportado dentro del núcleo donde estimula la transcripción de genes específicos. [80, 81]

**TABLA 6** Genes inducidos por NFκB [87]

Algunos genes cuya expresión es inducida por NFκB
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Genes que codifican citocinas TNF-α, IL-1, IL-6, IL-3, IL-12, INF-γ, GM-CSF</li> <li>• Genes que codifican moléculas de adhesión E-selectin, VCAM-1, ICAM-1</li> <li>• Genes que codifican quimiocinas IL-8, MIP-1α, MCP-1, RANTES, eotaxina</li> <li>• Genes que codifican receptores MHC</li> <li>• Genes que codifican enzimas inducibles COX-2, iNOS</li> <li>• Genes que codifican moléculas que intervienen en la proliferación celular, apoptosis y el ciclo celular. c-IAP, TRAF-1, TRAF-2, Bcl-2, AF-1/BF-1, Fas, c-myc, cyclin</li> </ul>

NFκB promueven la expresión de los receptores de las proteínas que permiten a los neutrófilos la migración de la sangre en tejidos. Además NFκB estimula la expresión de iNOS, que induce la isoforma de la enzima que produce oxido nítrico, que es tóxico para

<sup>3</sup> antiapoptosis: opuesto a la muerte programada.<sup>139</sup>



las células bacterianas, y de varias proteínas anti-apoptóticas que previenen la muerte celular. Así un simple factor de transcripción coordina y activa la defensa del cuerpo directa por la respuesta a los agentes patógenos y al estrés, o indirectamente respondiendo a las moléculas de señalización liberadas de otras células y tejidos infectados o heridos. [70]

Además de su papel en la inflamación y en la inmunidad, NFκB desempeña un papel fundamental en el desarrollo de los mamíferos. Por ejemplo, los embriones de ratón que no pueden expresar una de las subunidades de la Cinasa I-κB mueren a mediados de la gestación por la degeneración del hígado causada por la excesiva apoptosis de las células que normalmente sobreviven, aquí el NFκB es esencial para el desarrollo normal de este tejido. [60]

### ***7.3 Enfermedades relacionadas***

Estudios sobre la función del NFκB en el desarrollo sobre diversas enfermedades han llevado a los investigadores a estudiar más allá, hallando una serie de enfermedades de gran importancia relacionadas con defectos o excesos en la producción de este factor. [98]

Investigaciones recientes han llegado a la conclusión de que el NFκB es un factor fundamental en la relación entre inflamación crónica y desarrollo de cáncer, proceso que ocurre en por lo menos 15% de todos los tipos de cáncer. Debido a que el NFκB es muy activo tanto en inflamación como en algunos cánceres se sospechaba de su posible participación como mediador en la conexión entre inflamación crónica y desarrollo de cáncer. [98, 99]

**TABLA 7.** Enfermedades relacionadas con NF-κB [87]**Algunas enfermedades inflamatorias crónicas asociadas con la activación de NF-κB.**

- **Enfermedades inflamatorias:**

Artritis reumatoide

Ateroesclerosis

Asma

Esclerosis múltiple

Polirradiculoneuritis desmielinizante inflamatoria crónica

Enfermedad inflamatoria intestinal

Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica

- **Enfermedades infecciosas**

SIDA

Gastritis asociada a *helicobacter pylori*

- **Enfermedades endocrinas:**

Diabetes Mellitas tipo 2

Síndrome del eutiroideo enfermo

- **Cáncer**

- **Otras**

Enfermedad de Alzheimer

Caquexia

En estudios realizados en un modelo experimental de ratón que desarrolla colitis ulcerativa asociada a cáncer colon-rectal se encontró que el silenciamiento de IKK $\alpha$  en células mieloides, precursoras de macrófagos, disminuyó tanto la incidencia de tumores en cerca del 50% como el tamaño de ellos; por otro lado, el silenciamiento de IKK $\beta$  en células epiteliales intestinales redujo la incidencia de tumores en un 80% sin afectar el tamaño de los mismos ni la inflamación intestinal, que incluso fue más acentuada en los animales experimentales que en los controles. Así, el hecho de que la inhibición específica de IKK $\alpha$ , enzima importante en la activación de NFκB, en mielocitos precursores de células inflamatorias disminuye la formación de tumores, demuestra el rol clave de NFκB como mediador de los cambios celulares que se dan en la inflamación creando el escenario





adecuado para un crecimiento incontrolado de las células cancerosas y el desarrollo de metástasis.<sup>4</sup> De esta manera se demuestra que NFκB contribuye a la formación de tumores al proveer señales de vigilancia anti-apoptótica en células epiteliales. [83-85]

Las proteínas p50 y p65 de la familia de NFκB son abundantes en las células que se encuentran en el líquido sinovial<sup>5</sup> de pacientes con artritis reumatoide (AR) y osteoartritis (OA) respectivamente, sin embargo la activación de NF-κB es mucho mayor en la AR que en la OA. [90] En los tejidos sinoviales de las personas con AR y con espondiloartropatías seronegativas (EASN), el número de células que expresan NF-κB1 en las zonas de unión del cartílago con el pannus<sup>6</sup> es mucho mayor que en las otras zonas; hallazgo similar fue observado en el número de células que expresan RelA en el líquido sinovial de los pacientes con artritis reumatoide y no en el líquido sinovial de los pacientes con espondiloartropatías seronegativas. El pannus de la articulación lo forma la vascularización superficial periférica con infiltración hacia el tejido. En el tejido sinovial de las OA, el número de células NFκB1 + y RelA+ es similar a lo observado en las zonas diferentes a las de la unión del cartílago y el pannus en tejidos de AR y EASN.<sup>87</sup> En pacientes con AR y OA, la presencia de IKK detectada por métodos inmunoquímicos, es abundante en los sinoviocitos tipo fibroblastos, estando tanto el mRNA de IKK1 como el de IKK2 expresados constitutivamente. Después de la estimulación de estas células con TNF-α e IL-1, la activación de IKK2 es un evento clave en la vía del NFκB para la expresión de las citoquinas IL-6, IL-8, así como de la molécula de adhesión ICAM-1 y la colagenasa. [86]

Los experimentos realizados sobre modelos animales de artritis inflamatoria también respaldan el concepto que NFκB tiene una participación muy activa en el proceso inflamatorio del animal vivo. La activación de NFκB previa al inicio de las manifestaciones

<sup>4</sup> metástasis: Proceso que involucra la localización, progresión y asentamiento de células malignas en otros tejidos distintos al que ocupa la lesión primaria.<sup>139</sup>

<sup>5</sup> sinovial: Líquido que normalmente se encuentra en el interior de las articulaciones, en pequeña cantidad, y que actúa como lubricante. Lo segrega la membrana sinovial, también presente en la articulación.<sup>139</sup>

<sup>6</sup> pannus: Vascularización superficial periférica de la córnea con infiltración de tejido de granulación.<sup>139</sup>



clínicas y de la expresión de metaloproteinasas, ha sido encontrada tanto en los modelos del ratón con artritis inducida por colágeno tipo II y de la rata con artritis inducida por adyuvante. Asimismo, inyección intra-articular del gen de la IKK2 desencadenó artritis en ratas, confirmando de esta manera que la activación de la IKK es un evento crucial para el inicio de la sinovitis. [88, 89]

Estudios en condrocitos de personas con OA y con condrosarcoma, estimulados con TNF- $\alpha$  o IL-1 han demostrado que NFκB, así como las cinasas MAP, median la expresión de la metaloproteinasas MMP13. Estos estudios fueron realizados en pacientes con artritis usando diferentes inhibidores de las vías de NF-κB y MAPK sugiriendo que la inhibición de las señales de transducción de TNF- $\alpha$  y IL-1 por estos agentes puede ser útil para reducir la degradación del cartílago causada por metaloproteinasas. [91, 92]

Por otro lado, varias investigaciones han encontrado que las señales mecánicas también usan la vía del NFκB como una vía central para la regulación transcripcional de los genes pro-inflamatorios que controlan los procesos catabólicos desencadenados por estas señales en los condrocitos. Así, fuerzas mecánicas de menor magnitud previenen la translocación nuclear del NFκB, resultando en la inhibición de la expresión de estos genes, mientras que fuerzas mecánicas de mayor magnitud inducen esta traslocación y de esta manera la expresión de genes pro-inflamatorios. [93, 94, 95]

### ***7.3.1 Tratamiento***

En los últimos años se ha reportado el uso de un número cada vez mas creciente de bloqueadores no específicos de la vía del NFκB, incluyendo varias drogas anti-inflamatorias. Los glucocorticoides inhiben esta vía por diferentes mecanismos propuestos: induciendo la expresión de IκB lo que incrementa la retención citoplasmática de NFκB, inhibiendo la unión del NFκB al DNA en los diferentes promotores de los genes blanco y por interacciones proteína-proteína directas en ciertos tipos de células entre el receptor de



glucocorticoides activado y el factor de transcripción nuclear NFκB. Algunos agentes anti-inflamatorios no esteroideos (AINES), tales como los salicilatos y el sulindac, inhiben la actividad de la IKK, previniendo la fosforilación del IκB y por lo tanto, la activación de la vía del NF-κB. La sulfazalazina también suprime la fosforilación de la IκB, probablemente debido a la acción de uno de sus metabolitos, el ácido S-amino salicílico. Los agentes inmunosupresivos ciclosporina A y tacrolimus (FK506) inhiben la vía del NFκB por diferentes mecanismos: ciclosporina A disminuye la actividad proteolítica del proteosoma, previniendo la degradación de la IκBα y el tacrolimus bloquea la traslocación del c-Rel del citoplasma al núcleo. [94, 95] Otros agentes han sido también descritos como inhibidores de la vía del NFκB, tales como la vitamina E, la curcumina, la talidomida, la leflunomida, el dicarbonato de pirrolidina, la glucosamina, etc. [94-96] Todas estas sustancias reducen la producción de citocinas pro-inflamatorias y disminuyen los síntomas de las enfermedades degenerativas. [95]

Nuevas estrategias terapéuticas dirigidas a la inhibición específica de elementos claves en la activación de la vía del NF-κB se vienen desarrollando en los últimos años, despertando grandes expectativas por conocer los resultados en el, tratamiento de las artritis. [97-101] Así, la IKK2 resulta ser un blanco muy atractivo para intervenciones terapéuticas en AR y OA por la importancia preponderante que tiene en la activación de la vía del NFκB, regulando la producción de citocinas proinflamatorias en muchos tipos celulares, incluyendo sinoviocitos y condrocitos. El uso de una terapia genética intra-articular que libera una forma negativa dominante del gen de la IKK2 por medio de un vector adenoviral inyectado localmente, en las rodillas de ratas con artritis inducida por adyuvante, provoca la inhibición de la translocación de NF-κB, aboliendo la expresión de IL6, IL-8 y ICAM-1, así como de la colagenasa inducida por citocinas inflamatorias. [97] Recientemente, nuevos estudios usando moléculas inhibitoras pequeñas han reforzado aún mucho más el rol de IKK2. Una de estas moléculas, el sc514 inhibe la degradación de la IκB y la consecuente activación de NFκB inducida por IL-1, en cultivo de sinoviocitos. Otro inhibidor de la IKK,



el BMS-345541, ha demostrado eficacia en términos de parámetros clínicos e histológicos, en ratones con artritis inducida por colágeno tipo II. [97, 102]

Así, el NFκB aparece como un blanco muy atractivo en el tratamiento de las artritis, incluyendo OA, sin embargo, algunas inquietudes persisten acerca de los probables efectos deletéreos debido a su inhibición sistémica y de la factibilidad de su inhibición local a través de procedimientos de terapia genética. Futuros estudios en vivo indudablemente podrán proporcionar mayor conocimiento acerca de la importancia de la inhibición del NFκB en el tratamiento de las artritis como una terapia efectiva en la práctica médica. [101. 102]



## 8. ENFERMEDADES RELACIONADAS CON MyD88

En capítulos anteriores se ha revisado la importancia que tiene el sistema inmune para combatir mediante células especializadas cualquier sustancia extraña que penetre el cuerpo. Entre estas células están los macrófagos y las células dendríticas que inician la reacción inflamatoria como parte de un mecanismo de defensa eliminando así los antígenos extraños. Sin embargo en algunos casos estas células se han visto involucradas en mecanismos de lesión debido a que los macrófagos producen una excesiva cantidad de citocinas inflamatorias como la IL-1 y el TNF $\alpha$ , a través de la estimulación de receptores y de sus vías de señalización, en las cuales participan proteínas acopladoras como el MyD88. Cuando la estimulación de estas señales se prolonga, el exceso de citocinas pro-inflamatorias puede provocar enfermedades degenerativas. [84]

Tomando en cuenta lo anterior, los investigadores han mostrado interés por controlar y modular a través varios fármacos (anti-inflamatorios entre otros) la producción de citocinas, manipular las vías de señalización que inducen su síntesis o bloquear sus receptores de membrana. [119]

El estudio de las citocinas, así como de todos los factores que influyen en su liberación, como la proteína acopladora MyD88, es de gran ayuda para buscar sustancias naturales o fármacos que mejoren la condición de pacientes con enfermedades crónicas degenerativas. En líneas generales, se puede adelantar que el bloqueo o la falta de MyD88 reducen la respuesta inflamatoria al inhibir la transducción de señales de las citocinas inflamatorias. [121]

### 8.1 Autoinmunidad

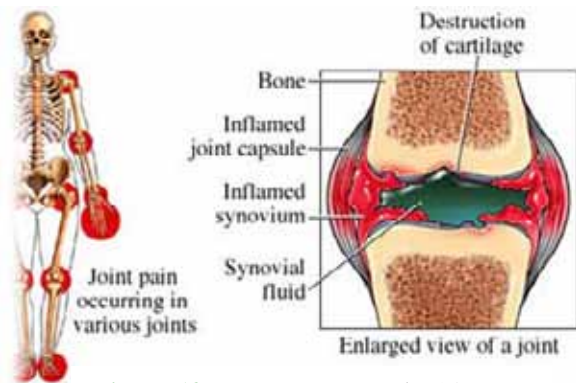
La respuesta del sistema inmune inicia la destrucción y eliminación de los organismos invasores y de las moléculas tóxicas producidas por ellos. Estas reacciones inmunitarias son destructivas por lo cual es importante que sólo se produzcan contra moléculas extrañas y no contra las del hospedero. En ocasiones el sistema inmune no distingue lo propio y lo



extraño de manera adecuada y destruye las células del huésped, originándose así las enfermedades autoinmunes<sup>1</sup>. [121]

### 8.2 Artritis Reumatoide (AR)

La artritis reumatoide es una enfermedad autoinmune, caracterizada por reacciones inflamatorias sistémicas que afectan primariamente la membrana sinovial y conducen a la destrucción de las articulaciones con degeneración del cartílago y erosión del hueso yuxta-articular, como una consecuencia de la cronicidad del proceso inflamatorio. [40]



**Figura 19** Artritis Reumatoide [146]

Aproximadamente 2.1 millones de norteamericanos sufren AR, de los cuales 1.5 millones son mujeres. La AR es un desorden inflamatorio crónico caracterizado por una deformación progresiva de las principales articulaciones. El diagnóstico se basa en criterios clínicos y de laboratorio. [41]

Esta enfermedad ocurre mas frecuentemente entre los 30 a 40 años y se extiende hasta los 70. Su aparición se ha relacionado con varios factores: 1) susceptibilidad genética, ya que los estudios han demostrado la asociación de la AR con la expresión de algunas moléculas del MHC de clase II, 2) la influencia del medio ambiente, porque se ha comprobado que los fumadores tienen un mayor riesgo de AR, particularmente en hombres y no en mujeres, debido a la diferencia de hormonas y 3) los efectos de la edad en los cambios somáticos de los sistemas inmune y musculoesquelético. [41]

<sup>1</sup>autoinmunidad: estado inmunitario que se caracteriza por la pérdida de la tolerancia a lo propio.<sup>139</sup>



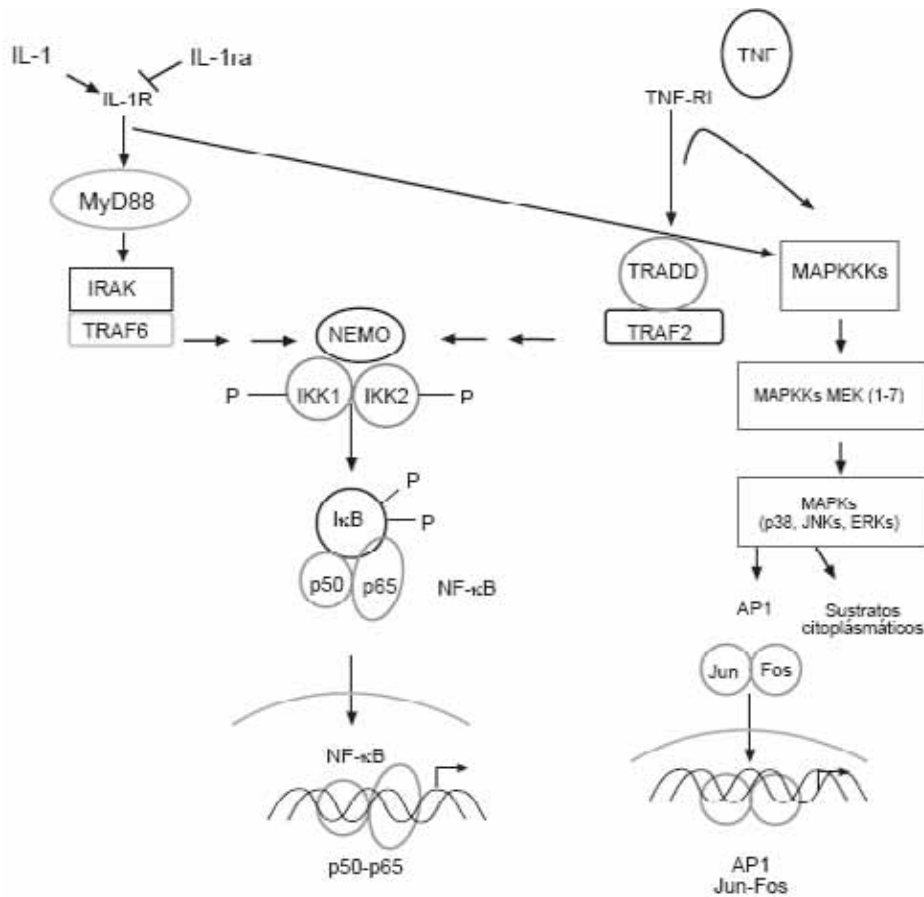
### 8.2.1 Patofisiología

Bajo circunstancias normales el cuerpo puede distinguir entre sustancias propias y no propias o extrañas para el cuerpo. Durante su etapa de maduración, las células inmunes (los linfocitos B y T) pueden reaccionar con antígenos propios que se encuentran en el timo o en medula ósea. Pero estas células inmaduras usualmente son eliminadas o inactivadas, aunque algunas pueden escapar y activarse varios años después iniciando una respuesta autoinmune. [100, 101]

Para los linfocitos maduros que han abandonado el timo, las interacciones célula-célula para el reconocimiento del antígeno comienzan con la célula presentadora de antígeno, cuya la molécula MHC tipo II reacciona con la molécula CD4 que se expresa en la superficie de la membrana del linfocito. La unión de estas dos células (una que presenta y otra que reconoce) resulta en la diferenciación de células T y en la activación de macrófagos que secretan moléculas citotóxicas y citocinas. Las moléculas citotóxicas pueden destruir directamente a las células del tejido, mientras que las citocinas son polipéptidos que sirven como mediadores importantes en la inflamación que rodea el tejido dañado. Las citocinas pro-inflamatorias como IL-1 y TNF $\alpha$  estimulan fibroblastos en la articulación del cartílago que secreta una enzima que lleva a la destrucción del tejido, por la degradación de proteoglicanos y colágeno. [103, 104]

En algunos pacientes el proceso es regulado por un balance en las citocinas anti-inflamatorias con citocinas IL-1Ra, IL-10, IL-4 e IL-11. [6]

A través de varios estudios se ha descubierto que las interleucinas inflamatorias como el TNF $\alpha$  y la IL-1 están directamente involucradas en la patogénesis de esta enfermedad. [39] Se ha demostrado que NF $\kappa$ B y JAK-STAT-3, son los principales factores de transcripción que se activan al final de vías de las señales intracelulares involucradas en la expresión de genes asociados con la inflamación y la destrucción tisular. [6]



**Figura 20.** Vías de transducción de señales que activan a la IL-1 y el TNF [147]

En la figura 20 se muestran las vías de transducción de señales del NF $\kappa$ B y MAPK las cuales son las principales activadas por citocinas proinflamatorias tales como factor de necrosis tumoral (TNF) e interleucina 1 (IL-1). La acción de moléculas antagonistas de los receptores para TNF $\alpha$  e IL-1 impiden la unión de estas citocinas a sus receptores y como consecuencia inhiben la inducción de las cascadas de transducción de señales y subsiguiente activación de los factores de transcripción AP-1 y NF $\kappa$ B. La actividad de las distintas quinasas y de los factores de transcripción constituye blancos terapéuticos que están siendo estudiados. Se puede concluir que el NF $\kappa$ B participa primero en la inducción de la inflamación, cuando las células son dañadas y los TLR de los macrófagos son estimulados por endotoxinas y en ese momento el factor nuclear transcribe la información para la síntesis de citocinas inflamatorias. Pero posteriormente, cuando las citocinas

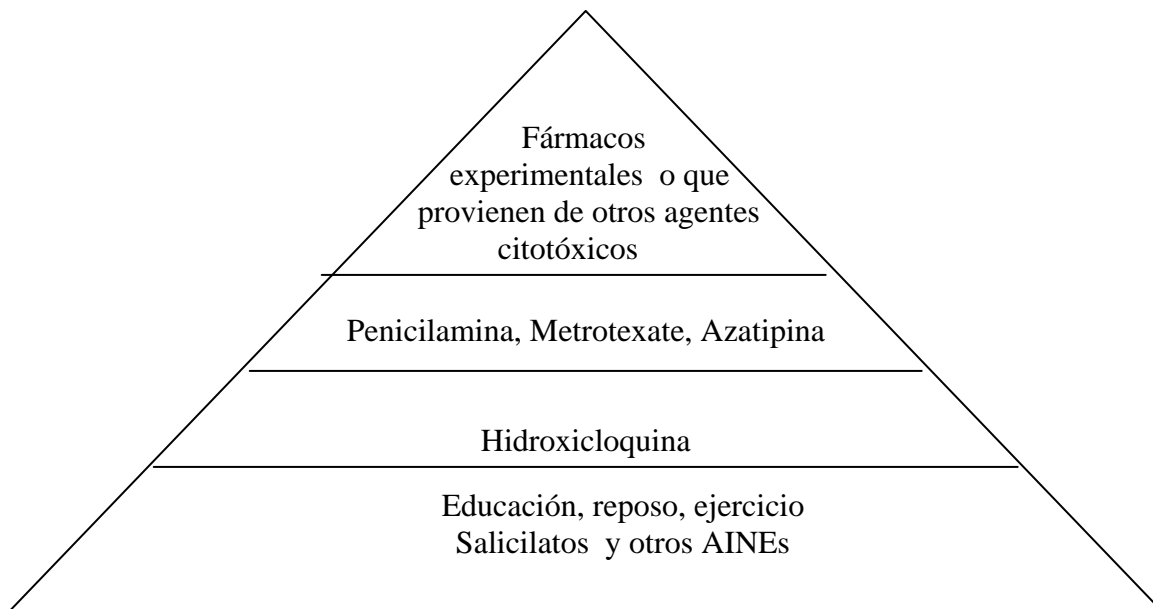




inflamatorias son secretadas y se unen a sus receptores de membrana en las células del hígado o de los vasos, entonces nuevamente el NF-κB y la proteína acopladora MyD88 son necesarios para que se exprese el efecto pro-inflamatorio de las citocinas. [59]

### 8.2.2 Tratamiento

En las enfermedades crónicas como la AR, su tratamiento incluye el uso de diferentes fármacos por periodos de tiempo prolongados, tratando de alcanzar los objetivos de disminuir la inflamación articular y aliviar el dolor, retrasar o evitar la destrucción estructural y sus secuelas, preservar la función articular y muscular, y garantizar en lo posible la calidad de vida.<sup>103, 104</sup> Involucra la combinación o intervenciones incluyendo reposo, ejercicio, soporte emocional, terapia ocupacional y medicamento. El tratamiento es especializado para cada paciente y dependerá de factores como edad, grado de actividad, ocupación, género, responsabilidades familiares, costo del medicamento y resultados de terapias previas (ver esquema 1). [41]



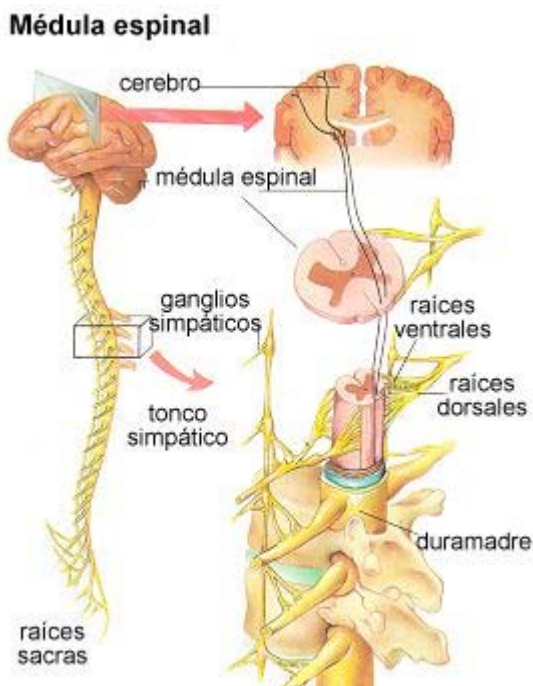
**Esquema 1** Pirámide para tratamiento de AR. [41]

Entres los medicamentos utilizados para esta enfermedad se encuentran:



- ✓ AINES: como Ibuprofeno, Naproxeno o Proxicam se utilizan por ser muy efectivos y tener poca toxicidad
- ✓ Anti-inflamatorios no esteroidales: como la Indometacina
- ✓ Corticosteroides: los cuales son los anti-inflamatorios esteroidales mas potentes como la ACTH (hormona adrenocorticotropica)
- ✓ Agentes alquilantes citotóxicos

### 7.3 Esclerosis Multiple (EM)



**Figura 21.** Anatomía de los sistemas nervioso central y periférico, en donde se instalan las lesiones de la Esclerosis Multiple [148]

Es una condición progresiva inflamatoria que afecta al sistema nervioso central (SNC), causando una disfunción neurológica progresiva. Como en otras enfermedades autoinmunes, es una combinación de factores genéticos y respuestas autoinmunes. Se ha sugerido que virus como el de Epstein-Barr y el del herpes tipo 6 son los responsables de iniciar la reacción vía migración molecular. Posteriormente, los linfocitos T citotóxicos destruyen la mielina de la médula. En esta enfermedad la interacción de mielina con células T y macrófagos es caracterizada por la formación de lesiones como placas. [108]

Se ha propuesto que los linfocitos  $T_{H1}$  secretan  $IFN\gamma$  durante la fase inicial de la infección viral, cruzando la barrera hematoencefálica. Factores múltiples influyen en la formación de las placas de mielina destruida, incluyendo la reacción de las células T con epitopes de mielina, y reacciones inflamatorias mediadas por citocinas pro-inflamatorias (IL-1,  $TNF\alpha$  e  $IFN\gamma$ ). La inflamación también puede estar mediada por la activación de la cascada de



complemento por anticuerpos anti-mielina que han reconocido sus autoantígenos específicos y una baja regulación de moléculas de adhesión e incremento en la producción de proteasa. Todo esto resulta en un daño al tejido nervioso incluyendo la desmielinización y la formación de placas en el cerebro y en la espina dorsal, llevando a la interrupción de impulsos nerviosos. Las células en el plasma y los fluidos en la espina secretan IgG específico para unirse a la proteína básica de mielina (MBP) o glicoproteína de mielina. En la práctica clínica se puede dividir a la EM en 3 tipos; 1) remisincente o dependiente de la memoria inmunológica, 2) progresiva primaria y 3) progresiva secundaria. [109]

### ***8.3.1 Patofisiología***

La incidencia de esta enfermedad es de los 20-50 años con aproximadamente dos veces mas mujeres afectadas que hombres. Hay un incremento de riesgo en personas del norte de Europa y su descendencia. Los síntomas son variables e incluyen la pérdida sensorial, debilidad en los miembros, desmayos, espasmos, temblor, fatiga, vértigo, deterioro cognitivo y pérdida de memoria. El tratamiento con esteroides puede ayudar a disminuir la reacción inmune. Recientemente las inyecciones con INF $\beta$  y proteínas sintéticas similares a proteína mieloide son utilizadas en algunos pacientes. [108, 109]

### ***8.3.2 Tratamiento***

En esta enfermedad los glucocorticoides son ampliamente utilizados como medida terapéutica para reducir las reacciones inflamatorias agudas en la médula y el cerebro [105,106] cuyas lesiones provocan la aparición de los síntomas característicos de la progresión de la enfermedad. [107-110] A nivel molecular los glucocorticoides activan al receptor de glucocorticoides. La activación de este receptor lo transloca al núcleo en el cual se expresa su actividad anti-inflamatoria, principalmente mediante el bloqueo de factores de transcripción proinflamatorios como NF $\kappa$ B. [111-113]



## 9. FARMACOS

La adecuada y suficiente señalización que sigue a continuación de la estimulación de los receptores TLR/IL-1R es esencial para el inicio de las reacciones inflamatorias, la remoción microbiana y la reparación del tejido dañado. Sin embargo la hiperactivación de la señalización TLR/IL-1R puede causar shock séptico y alteraciones autoinmunes, así como una respuesta inmune ineficaz o inadecuada que podría favorecer la aparición de enfermedades como el cáncer, las alergias y varias enfermedades autoinmunes. Es por ello que en la actualidad algunos investigadores se han interesado en preparar medicamentos cuyo mecanismo de acción evita la activación exagerada de las vías de señalización de los receptores IL-1R y TLR. [121]

Este capítulo farmacológico de los bloqueadores de las vías de señalización de los receptores TLR/IL-1R en las cuales participan las proteínas sobre las que se ha enfocado este trabajo de revisión (MyD88 y NFκB) apenas comienza a ser explorado de modo que no existe literatura abundante al respecto. Sin embargo, he considerado conveniente revisar brevemente la terapia anti-inflamatoria convencional, enfatizando en lo posible los riesgos de toxicidad que tienen y que, por supuesto, también van a presentar los bloqueadores de las proteínas acopladoras MyD88 y del factor de transcripción nuclear NFκB. A continuación se mencionan algunos de los medicamentos que ayudan a controlar los síntomas de algunas enfermedades autoinmunes caracterizadas por procesos inflamatorios crónicos. De igual forma se hace referencia a varios compuestos cuyo potencial terapéutico actualmente se encuentra bajo investigación. [21, 122]

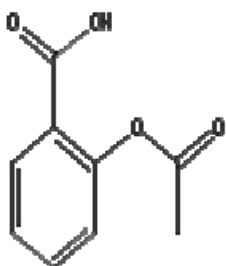
### *9.1 Anti-inflamatorios no esteroideos (AINES)*

Este tipo de medicamentos difieren en su estructura pero en general tienen propiedades farmacológicas similares (ej. antipiréticos<sup>1</sup>, analgésicos, anti-inflamatorios, inhiben la síntesis de prostaglandina), los mismos mecanismos de acción (inhibición de la COX), un efecto dañino atribuido a la inhibición de COX (ej. Intolerancia, nefrotoxicidad, y riesgo de

<sup>1</sup> antipiréticos: Sustancia con capacidad de bajar la fiebre; secundariamente.<sup>139</sup>



sangrado) y varias propiedades farmacocinéticas compartidas (ej, una alta cantidad de proteína metabolizada por inactivar metabolitos que se excretan renalmente).

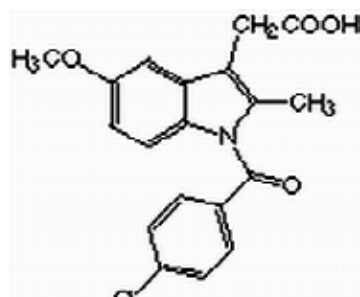


**Figura 22** Aspirina [149]

La aspirina que es un AINES de la familia de los salicilatos suprimen la fiebre antagonizando el efecto de la IL-1, pero el mecanismo es indirecto. En realidad, la síntesis de la prostaglandina en el cerebro en respuesta a la IL-1 es responsable de la fiebre<sup>24</sup>. La aspirina, como los otros AINES inhiben la síntesis de la prostaglandina<sup>5</sup>, suprimiendo así la respuesta hipertérmica.

Los estudios de Couchman y Sheppard [126] revelaron que la IL-1 reduce la degeneración del cartílago y no es afectada por los inhibidores de la ciclooxigenasa, pero hallaron que el número de AINES mostraron una propiedad en común pro suprimir la producción de catabolita en tejidos sinoviales. Los resultados encontrados fueron inconsistentes con los de otros grupos, [127] fármacos como la aspirina y clozic fallaron en inhibir a la IL-1, esto se atribuyó a diferencias en la preparación del compuesto y al ensayo. Probablemente por el uso de dosis y diseños experimentales diferentes en la literatura existen resultados contradictorios cuando se estudia el efecto de los AINES sobre la producción de la IL-1. [126, 127]

### 9.1.1 Indometacina



**Figura 23** Indometacina [149]

La Indometacina reduce la producción de plasminógeno activador [128] y cambia la síntesis de DNA [129] en células activadas por IL-1. En ambos estudios la PGE<sub>2</sub> exógena nulifica la inhibición por indometacina. Brandwein [130] encontró que ésta causaba una pequeña estimulación en la



producción de IL-1 en macrófagos peritoneales de ratón, la cual probablemente depende de que la PGE<sub>2</sub>, el AMP y los agentes que elevan el cAMP suprimen la síntesis de IL-1. La IL-1 y la PGE<sub>2</sub> fueron secretadas en respuesta a LPS y la concentración de prostanoide<sup>2</sup> generado fue suficiente para causar la inhibición de la IL-1. Consistentemente con este pequeño aumento en la producción de la IL-1 se observó que la síntesis de PGE fue inhibida por la indometacina. Kunkel [131] reportó que la estimulación con LPS induce la síntesis de IL-1 por indometacina, piroxicam e ibuprofeno, pero otros [132, 133] fallaron en observar que los AINES aumentan la síntesis de IL-1. [132]

### 9.2 Inhibidores de COX-2

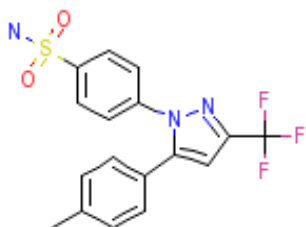


Figura 24 Celocoxib [149]

Es importante aclarar que la COX tiene dos isoformas (COX-1, COX-2), mediadores inflamatorios como las citocinas, las cuales regulan la expresión de COX-2. Por tanto se espera que fármacos selectivos para inhibir COX-2 sean buenos anti-inflamatorios con mínimos efectos adversos en la mucosa gastrointestinal. [41]

Algunos ejemplos de inhibidores de COX-2 son el Celocoxib, Rofecoxib y Valdecoxib. FDA investigó la seguridad de los dos primeros en cuanto a los efectos adversos. En el caso del Celocoxib se comparó su toxicidad con la del Ibuprofeno y se encontró que el primero tiene una mayor incidencia en la aparición de úlceras. En el caso del Rofecoxib se utilizó el Naproxeno como comparativo y se demostró que es menos dañino para la mucosa gastrointestinal que el naproxeno. [41]

<sup>2</sup> prostanoide:



### 9.3 Fármacos Antirreumáticos tradicionales para la enfermedad modificada (DMARD)

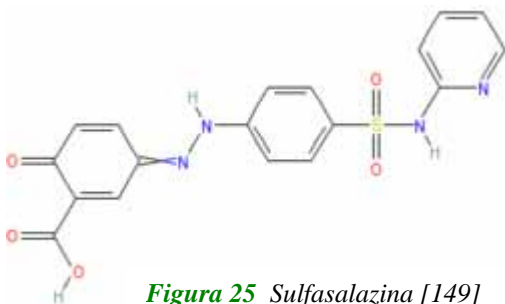


Figura 25 Sulfasalazina [149]

Las terapias con DMARDs son muy efectivas pero no dejan de tener toxicidad. Tienen un efecto potente en la reducción de la inflamación y reducen o previenen el daño del tejido, manteniendo la función y la integridad. Algunos de estos fármacos son Sulfasalazina, MTX, leflunomida, ciclosporina e Hidroxicloroquina.

[41]

### 9.4 Corticosteroides

Al revisar las propiedades anti-inflamatorias e inmunosupresivas de los corticosteroides, Fauci [134] comenta que en la literatura se pueden encontrar resultados en apoyo de que prácticamente todas las células involucradas en la reactividad inflamatoria e inmunológica pueden ser modulados en gran o en corta medida por los glucocorticosteroides, principalmente porque afectan la síntesis y la respuesta de IL-1. En realidad, el mismo efecto lo tiene cualquier fármaco que afecte la producción de la IL-1, como sucede por ejemplo con el Dexametroxano, que previene la inducción de la síntesis del mRNA de la IL-1. Este fármaco tiene un efecto directo en la transcripción de IL-1. [135]

El mutuo antagonismo entre la IL-1 y los glucocorticoides puede ser demostrado in vivo. Por ejemplo el Dexametroxano administrado con LPS reduce los niveles de IL-1 en suero<sup>67</sup>. En animales con degeneración crónica en tejidos, los corticosteroides decrece la excesiva producción de IL-1. Johnson et al [135] encontró que la prednisolona reduce la síntesis de IL-1 en macrófagos de pulmón de ratas con artritis. Connolly et al [136] encontró en ratas con artritis provocada mediante la inyección de adyuvantes, que el Dexametroxano disminuye la fase aguda reactiva, causando la supresión de IL-1 contribuyendo a la actividad anti-inflamatoria de los esteroides. [136]



Diversos estudios sugieren que los efectos opuestos de la IL-1 y los glucocorticoides funcionan como un mecanismo de retroalimentación negativa neuroinmunoendocrina. [67, 68] La IL-1 y la IL-6 inducen la secreción de ACTH y otras hormonas [71-72] de la glándula pituitaria.

Las dosis administradas de este glucocorticoide por lo general son muy bajas o pueden ser igualmente administradas por inyecciones locales que son muy efectivas en síntomas de RA activa. Sin embargo su uso ocasiona distintos daños como osteoporosis, diabetes, formación de cataratas, supresión adrenal, hipertensión, así como un incremento en el riesgo de infecciones por oportunistas. [138]

### ***9.5 Agentes alquilantes citotóxicos***

Ciclofosfamida y Clorambucil son efectivos en el tratamiento de casos progresivos y severos de AR, pero son riesgosos por ser potentes citotóxicos. [40]

### ***9.6 Otras Terapias***

Talidomida es un inhibidor de TNF $\alpha$  que es efectivo en el tratamiento de AR, pero tiene diversos efectos adversos como teratogenesis<sup>3</sup> y neuropatía periférica. Si se opta por esta opción, el tratamiento debe ser monitoreado y correctamente guiado. La talidomida solo se usa en casos graves de AR. [100, 121]

La ciclosporina es una opción efectiva, en combinación con el metotrexate, sin embargo esta terapia es complicada por causar serios efectos (particularmente su toxicidad a nivel renal e hipertensión) y su costo elevado. La interacción de los fármacos se tiene que monitorear para conocer el nivel de fármaco. Esta terapia se utiliza en pacientes con AR muy grave. [40]

---

<sup>3</sup> *Teratogenesis*: Que genera malformaciones en la formación del feto.<sup>139</sup>





En los últimos años se ha utilizado el antagonista del receptor de la Interleucina 1 (IL-Ra) para tratar enfermedades inflamatorias crónicas como la artritis reumatoide. El tratamiento consiste en aplicar inyecciones de la forma sintética de este antagonista, ya que se ha observado que los pacientes sometidos a este tratamiento muestran disminución en la actividad de la IL-1 y reducen la destrucción de los tejidos inflamados. Hoy en día, este tratamiento se está utilizando en Estados Unidos, Canadá y en Europa obteniendo buenos resultados. [8]

### *9.7 Compuestos en investigación*

Desde hace algunos años los investigadores han observado que al evitar la unión del MyD88 con IL-1R en el dominio TIR, se evita la producción de NFκB y de este modo se frena la producción de las citocinas pro-inflamatorias. Es por ello que las recientes investigaciones se han centrado a este hecho para encontrar posibles compuestos que eviten esta unión. [123]

MyD88 es un objetivo adecuado de los medicamentos destinados a la inhibición de la activación exógena y endógena de la señalización de TLR/IL-1R [122]. Rebek Jr et al [123] sintetizaron y probaron en vivo la eficacia de un compuesto de bajo peso molecular que actúa como un inhibidor de MyD88. Se trata de una secuencia de tripéptidos que bloquea las uniones BB del dominio de TIR. Posteriormente se encontró al compuesto capaz de alterar la interacción de MyD88 con el complejo IL-1R/IL-1RAcp. [124]

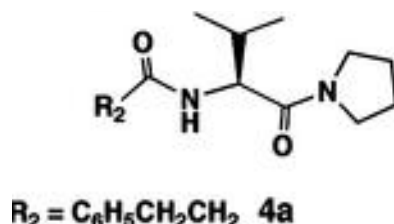
Es por ello que algunos de los compuestos en investigación que son sintetizados se basan en imitar esta secuencia de las uniones BB del dominio TIR. [123]

Mediante rayos X se ha encontrado la base estructural del dominio TIR, la cual fue elucidada en TLR2 de humanos. Ésta consiste en 5 hojas paralelas y 5  $\alpha$ -helices interconectadas por uniones. Asimismo se encontró una larga superficie conservada, que involucra las uniones BB con secuencias (F/Y) (V/L/I) (P-G) encontradas también en



diferentes receptores Toll y en MyD88. Conociendo estos datos se iniciaron investigaciones para encontrar algún compuesto con estas características. [123]

En los laboratorios se sintetizaron análogos de la secuencia central 3aa de las uniones BB y se estudiaron sus efectos en la señal de la IL-1R1 in vitro e in vivo. El primer compuesto activo sintetizado fue *hidrocinamoil-L-valil pirrolidin* se muestra que es posible imitar el efecto de la forma dominante negativa de MyD88, o la unión extracelular del antagonista de la IL-1R1.



*Figura 26* Hidrocinamoil-L-valil pirrolidin [150]

Estas uniones pueden ser de importancia farmacológica debido a que bloquean la señal de IL-1 y, por consiguiente, tienen un efecto terapéutico en artritis reumatoide y en la sepsis. [123]

El efecto del compuesto anteriormente mencionado activa la señal de las cinasa MAP, lo cual puede ser atribuido a la activación de la cascada por otras proteínas, como se ha observado en ratones deficientes de MyD88. Sin embargo paralelamente también se ha observado que este compuesto no inhibe la interacción entre TLR4 y MyD88. La especificidad se muestra en la interacción entre IL-1R y MyD88 y no en la de TLR4 y MyD88, lo cual sugiere que los diferentes dominios TIR que median la interacción pueden ser o no inhibidos por una pequeña molécula de bajo peso. La variación entre los aminoácidos de los diferentes dominios TIR de los TLRs sugiere la posibilidad de un blanco farmacológico específico. [123]



El compuesto proporciona evidencia adicional de la regulación de la unión proteína-proteína. De hecho en los últimos años ha comenzado una tendencia por la síntesis de pequeñas moléculas no peptídicas que imitan esta unión o pueden inhibir la interacción con proteínas.

El ST2825 es un péptido sintetizado por Carminati, P et al [115] que resulta un modelo de la estructura de un heptapéptido unido al dominio TIR-MyD88, que interfiere con la señalización de MyD88. Se encontró que interfiere con la contratación de IRAK1 y 4 causando la inhibición de la IL-1 $\beta$  que media la activación de NF- $\kappa$ B. También se encontró que inhibe la proliferación de las células B en el plasma y la diferenciación de las células en respuesta a secuencias CpG (secuencias de DNA bacteriano) inducida por la activación de TLR9. [115]

El ST2825 interfiere con la homodimerización de MyD88 y esto sugiere que puede tener un efecto potencial terapéutico en el tratamiento de las enfermedades inflamatorias crónicas. [115]

MyD88 es una proteína esencial para la señalización intracelular en respuesta a la IL-1 $\beta$  y estimula TLR9, aunque su activación se requiere para una defensa eficaz contra infecciones por patógenos, su señalización excesiva puede llevar a los síndromes clínicos [116, 117] por lo tanto la supresión de MyD88 podría ser benéfica en el tratamiento de situaciones patológicas inflamatorias. Lo que los autores [118] encontraron, es que ST2825 tiene el efecto de reprimir una respuesta inflamatoria a IL-1R y TLR9, lo cual sugiere que este péptido podría ser útil para desarrollar compuestos que ejercen acción anti-inflamatoria. [118]



## 10. DETECCIÓN DE MyD88

Desde hace años se conocen las actividades biológicas, pro- o anti-inflamatorias, de varias citocinas. Muchos investigadores han realizado diseños experimentales y clínicos basados en la cuantificación o simplemente la detección de algunas de ellas, para utilizarlas como referencia en diversos procesos inflamatorios. En algunos de estos estudios las técnicas inmunohistoquímicas han demostrado la presencia de citocinas en el sitio dañado; en otros casos, por técnicas de radioinmunoensayo y ELISA se ha medido la concentración de las citocinas en los líquidos biológicos o se ha demostrado su producción en determinados tejidos usando técnicas de hibridización *in situ*. [48]

La evidencia acumulada hasta hoy indica que los niveles medidos de IL-1 y TNF $\alpha$  y varias otras citocinas pueden ser detectados utilizando diseños experimentales y clínicos, ambos en tejidos afectados y en fluidos de tejidos inflamados. Otros estudios han mostrado un cambio en la producción de citocinas en sangre periférica o células mononucleares de pacientes enfermos. [40]

En capítulos anteriores se ha discutido la importancia de MyD88 en la vía de señalización de estas citocinas. Por lo tanto es preciso enfatizar que en la mayoría de los diseños experimentales también se tiene como un control a MyD88. En este capítulo se presentan varias técnicas diferentes mediante las cuales se puede detectar a esta proteína. [42]

### 10.1 *Electroforesis Desnaturalizante*

Es una herramienta analítica simple y relativamente rápida, se utiliza para analizar y purificar muchas moléculas como proteínas y ácidos nucleicos, pero puede ser aplicada a moléculas simples como los azúcares, aminoácidos, péptidos, nucleótidos o iones simples. Es un método de detección ligeramente sensible, es un proceso en el cual las moléculas en solución se mueven mediante la aplicación de un campo eléctrico. El movimiento de las moléculas mediante la aplicación de este campo eléctrico dependerá del tamaño y peso de las mismas, esta técnica es ampliamente utilizada para la separación de moléculas. [42]



### 10.2 Inmunoelectrotransferencia

En esta técnica se separan en primer lugar los antígenos contenidos de la muestra mediante un gel por ejemplo de SDS-poliacrilamida o un gel de enfoque isoeléctrico. Las moléculas separadas son transferidas mediante electroforesis en una cámara de transferencia a una membrana de nitrocelulosa. A continuación la membrana es tratada con un anticuerpo específico que reconoce el antígeno en estudio, se lava y finalmente se le añade un conjugado marcado radiactivamente específico de los anticuerpos que han quedado retenidos en la misma. El fundamento de este método es parecido a ELISA. Después de un nuevo lavado, la membrana se sitúa en una cámara adecuada en contacto con una película sensible a los rayos X, tras revelar la radioautografía resultante se hacen visibles las bandas de antígeno que han fijado el anticuerpo. Esta técnica puede ser modificada mediante la utilización de marcadores quimioluminiscentes<sup>1</sup> o de un conjugado enzimático en cuyo caso los productos fijados pueden ser detectados mediante tratamiento con un cromógeno<sup>2</sup> que provoque el depósito de alguna sustancia insoluble entre la membrana. [42]

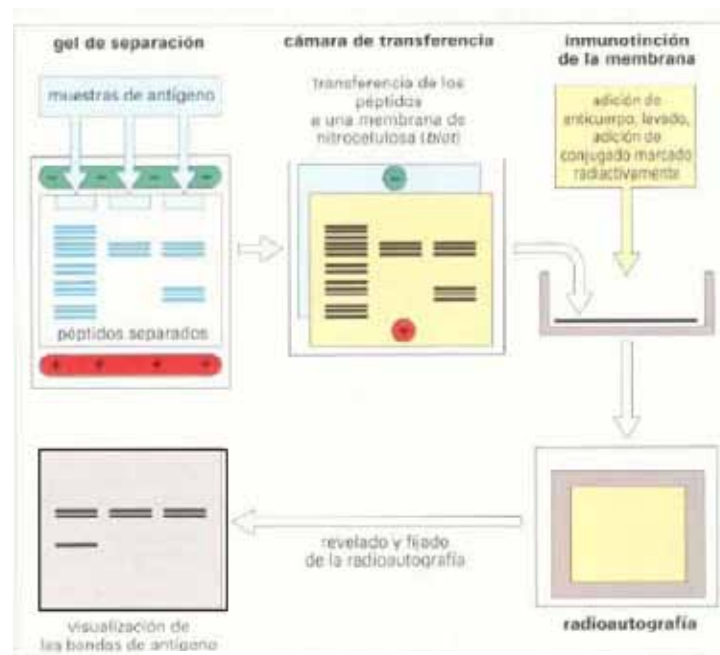


Figura 28. Inmunotransferencia [139]

<sup>1</sup> quimioluminiscentes: que producen luz.<sup>139</sup>

<sup>2</sup> cromógeno: aquel que genera simultáneamente un color por medio de compuestos copulantes de color presentes en la muestra.<sup>139</sup>



### 10.3 Prueba de inmonoabsorción ligada a enzima (ELISA)

Esta técnica se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, por ejemplo un colorante, puede ser medido espectrofotométricamente. Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmunoensayo ideal: es versátil, robusto, simple en su realización emplea reactivos económicos y consigue, mediante el uso de la fase sólida, de una separación fácil entre la fracción retenida y la fracción libre. [42]

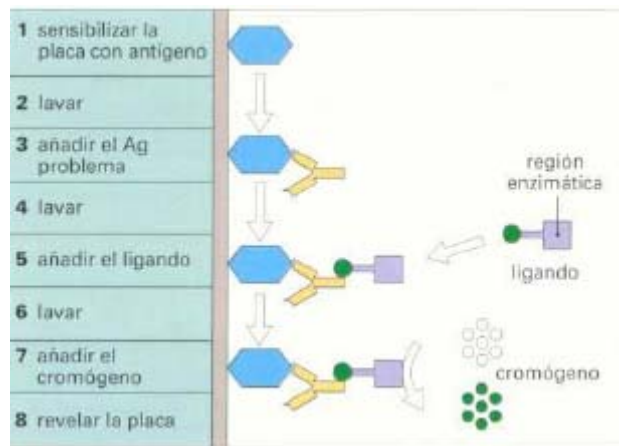


Figura 29. Prueba de inmonoabsorción ligada a enzima(ELISA) [139]



## 11. CONCLUSIONES

- Los macrófagos y las células dendríticas son los principales productores de citocinas pro y anti-inflamatorias ya que sus receptores al unirse a productos bacterianos activan las vías de señalización que van a estimular su síntesis
- La proteína acopladora MyD88 es un elemento pivote en la vía de señalización de las citocinas pro-inflamatorias, ya que su unión con IRAK es necesaria para la activación del NFκB.
- Existen vías alternas por las cuales se pueden activar el NFκB y estimular la producción de estas citocinas inflamatorias sin la participación del MyD88, ocupando proteínas acopladoras distintas, como el TRIF.
- La activación del NFκB se acompaña de una excesiva trasducción de IL-1, IL-6, TNFα e IFNα. El aumento en la producción de estas citocinas es característico de varias enfermedades autoinmunes, tales como AR o EM.
- Actualmente existen numerosos tratamientos anti-inflamatorios que se utilizan en éstas y otras enfermedades. Casi todos ellos tienen diversos efectos colaterales, de modo que se trabaja continuamente en la búsqueda de nuevos fármacos anti-inflamatorios, cada vez más efectivos y menos tóxicos.
- Recientemente algunos agentes biológicos, como el antagonista del receptor de la IL-1, se han utilizado como anti-inflamatorios con cierto éxito. Cabe mencionar que estos tratamientos con productos biológicos no son utilizados en todo el mundo sino en solo algunas partes y lo hacen como un tratamiento alternativo experimental.





**12. BIBLIOGRAFIA**

- 1 Klaus D. Elgert. INMUNOLOGY Understanding the Immune System. Ed. Wiley-Liss. USA 1996, Pp 6-7, 23-32, 200-215.
- 2 E. Lewis, James O'S McGEE. The Macrophage. Ed Oxford University. USA 1993. pp 54-55, 232-235, 291-297, 320-325, 370-375.
- 3 Takeda K, Kaisho T y Akira S "Toll-Like Receptors" Annual Review of Immunology 21:335-376, 2003
- 4 Gisa Gerold, Arturo Zychlinsky, Juana L. de Diego." What is the role of Toll-like receptors in bacterial infections". 2007 Elsevier Seminary in Immunology
- 5 Gloria Gutiérrez-Venegas y Patricia Cardoso-Jiménez. "Acido Lipoteicoico: receptores y mecanismo de transduccion". *REB* 25(2): 41-49, 2006
- 6 Artículo de Revisión, "Terapias emergentes en artritis reumatoide". *Chile* 2005; 133: 969-976
- 7 Leonard H. Signal M. D, Yacob Ron Ph. D. Immunology and Inflammation ( Basic Mechanism and Clinical Consequences). Ed McGraw-Hill Inc.USA 1994.
- 8 William E. Paul. Fundamental Immunology. Ed. Lippincott Williams & Wilkins. USA 2003.
- 9 Bruce Alberts. Biología molecular de la célula. 3ª ed. Ed Omega. Barcelona 2002.
- 10 Leonard H. Signal M. D. Yacov Ron Ph, D, Immunology and inflammation. Basic Mechanism and Clinical consequences. McGraw-Hill-Inc. United States of american. 1994 pp 27-28, 64-67, 164-166, 330-334, 360-366, 523-524.
- 11 Gay NJ. Keith FJ. *Drosophila* Toll and IL-1 receptor. *Nature* 1991;351:335-356
- 12 Bird TA. Gearing AJ, Saklarvala J, Murine Interleukin-1 receptor: differences in binding properties between fibroblastic and thymoma cells and evidence for a two-chain receptor model. *FEBS Lett* 1987;225:21-26.
- 13 Scapigliati G, Ghiara P, Bartalini A, et al. Differential binding of IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$  to receptor on B and T cells, *FEBS Lett* 1989;243:394-398.



- 14 Savage N, Puren AJ, Orencole SF, et al. Studies on IL-1 receptors on D10S T-helper cells :demonstration of two molecularly and antigenically distinct IL-1 binding proteins. *Cytokine* 1989;1:23-256
- 15 Qwarnstrom EE, Page RC, Gillis S, et al, Binding, internalization and intracellular localization of interleukin-1 beta in human diploid fibroblast. *J Biol Chem.* 1988;263:8261-8269
- 16 Beutler B.Autoimmunity and apoptosis.The Crohns connection. *Immunity* 2001;15:5-14
- 17 Heguy A, Baldari CT, Macchia G, et al. Amino acid conserved in interleukin-1 receptors and the Drosophila Toll protein are essential for IL.1R signal transduction. *J Biol Chem* 1992;267:2605-2609.
- 18 McMahon CJ, Slack JL, Mosley B, et al. A novel IL-1 receptor cloned from B cells by mammalian expression is expressed in many cell types.*EMBO J.*1991;10:2821-2832.
- 19 Boch JA, Yoshida Y, Koyoma Y, Wara-Aswapah N, Peng H, Unluis Auron PE. Characterization of a cascade of protein interactions initiated at the IL-1 receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;303:525-531.
- 20 Bonnert TP, Garka KE, Parnet P, Sonoda G, Testa JR, Sims JE. The cloning and characterization of human MyD88, a member of a IL-1 receptor related family . *FEBS Letters* 1997;402:81-84.
- 21 Hardiman G, Rock FL, Balasubramania S, Kastelan RA, Bazan JF, Molecular characterization and modular analysis of human MyD88. *Oncogen* 1996;13:2467-2475.
- 22 Wesche H, Henzel WH, Shillinglaw W, Li S, Cao Z. MyD88 and adapter that recruits IRAK to the IL-1 receptor complex. *Immunity* 1997;7:837-847.
- 23 Croston GE, Cao Z, Goeddel DV. NFκB activation by interleukin-1 requires an IL-1 receptor-associated protein kinase activity. *J Biol Chem* 1995;270:16514-16517.



- 24 Cao Z, Xiong J, Takeuchi M. et al Interleukin-1 receptor activating kinase. *Nature* 1996; 383: 443-446.
- 25 Huang J, Gao X, Li S, et al. Recruitment of IRAK to the Interleukin-1 receptor complex requires Interleukin-1 receptor accessory protein. *PNAS* 1997;94:12829-12832,
- 26 Cao Z. Signal transduction of interleukin-1. *Eur Citokine Netw* 1998;9:378 (abst.)
- 27 Taro Kawai, Shizuo Akira. TLR Signaling. *Semin Immunol* 2007 *semin* 2006,12,004
- 28 Eldon E, Kooyer S, D'Evelyn D, Duman M, Lawinger P, Botas J, Bellen H. The Drosophila 18 wheeler is required for morphogenesis and has striking similarities to *Toll*. *Development* 1994;120(4):885-99.
- 29 Gay NJ, Keith FJ. Drosophila Toll and IL-1 receptor. *Nature* 1991;351(6325):355
- 30 Norris JL, Manley JL. Functional interactions between the pelle kinase, Toll receptor, and tube suggest a mechanism for activation of dorsal. *Genes and Development* 1996;10(7):862-72.
- 31 O'Neill LA, Greene C. Signal transduction pathways activated by the IL-1 receptor family: ancient signaling machinery in mammals, insects, and plants. *Journal of Leukocyte Biology* 1998;63(6):650-7.
- 32 Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Kopp E, Stadlen A, Chen C, Ghosh S, Janeway CA, Jr. MyD88 is an adaptor protein in the hToll/IL-1 receptor family signaling pathways. *Molecular Cell* 1998;2(2):253-8.
- 33 Muzio M, Natoli G, Saccani S, Levrero M, Mantovani A. The human Toll signaling pathway: divergence of nuclear factor kB and JNK/SAPK activation upstream of tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF6). *Journal of Experimental Medicine* 1998;187(12):2097-101.
- 34 Shimazu R, Akashi S, Ogata H, Nagai Y, Fukudome K, Miyake K, Kimoto M. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *Journal of Experimental Medicine* 1999;189(11):1777-82.



- 35 Yang H, Young DW, Gusovsky F, Chow JC. Cellular Events Mediated by Lipopolysaccharide-stimulated Toll-like Receptor 4. *Journal of Biological Chemistry* 2000;275(27):20861–6.
- 36 Kirschning CJ, Wesche H, Ayres TM, Rothe M. Human Toll-like receptor 2 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharide. *Journal of Experimental Medicine* 1998;188(11):2091–7.
- 37 Flo TH, Halaas O, Lien E, Ryan L, Teti G, Golenbock DT, Sundan A, Espevik T. Human toll-like receptor 2 mediates monocyte activation by listeria monocytogenes, but not by group B streptococci or lipopolysaccharide. *Journal of Immunology*
- 38 Luke A. J. O'Neill and Andrew G. Bowie. The family of five: TIR-domaincontaining adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nature Review Immunology* 2007;7: 353-364
- 39 Sims, J. E et al. cDNA expression cloning of the IL-1 receptor, a member of the immunoglobulin superfamily. *Science* 1998 241:585
- 40 Sims, J. E. Et al.. Interleukin 1 signaling occurs exclusively via the type I receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993 90:6155
- 41 Mary Ame Kimble, et al. Applied Therapeutic: The clinical use of drugs, 8<sup>a</sup> ed. Ed Lippincott Williams & Wilkins. USA 2004 Cap 43.
- 42 Roitt. Brostoff. Male. Inmunología. 5<sup>a</sup> ed. Ed Mosby 2005
- 43 Yamagata, M., Merlie, J. P. & Sanes, J. R. Interspecific comparisons reveal conserved features of the *Drosophila* Toll protein. *Gene* 1994 139:223–228 (1994).
- 44 Hultmark, D. Macrophage differentiation marker myd88 is a member of the Toll/IL-1 receptor family. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994 199:144–146 (1994).
- 45 Medzhitov, R. et al. MyD88 is an adaptor protein in the hToll/IL-1 receptor family signaling pathways. *Mol. Cell* 1998 2;253–258.
- 46 Muzio, M., Natoli, G., Sacconi, S., Levrero, M. & Mantovani, A. The human Toll signaling pathway: Divergence of nuclear factor  $\kappa$ B and JNK/SAPK activation upstream of tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6). *J. Exp. Med.* 1998 187: 2097–2101.



- 47 Kawai, T., Adachi, O., Ogawa, T., Takeda, K. & Akira, S. Unresponsiveness of MyD88-deficient mice to endotoxin. *Immunity* 1999 11;115–122.
- 48 Takeuchi, O. *et al.* Cellular responses to bacterial cell wall components are mediated through MyD88-dependent signaling cascades. *Int. Immunol.* 2000 12; 113–117.
- 49 Walker, W. E. *et al.* Absence of innate MyD88 signaling promotes inducible allograft acceptance. *J. Immunol.* 2006 177;5307–5316.
- 50 Kobayashi, K. *et al.* IRAK-M is a negative regulator of Toll-like receptor signaling. *Cell* 2002 110;191–202.
- 51 Takeuchi, O., Hoshino, K. & Akira, S. Cutting edge: TLR2-deficient and MyD88-deficient mice are highly susceptible to *Staphylococcus aureus* infection. *J. Immunol* 2000 165;5392–5396.
- 52 Adachi, K. *et al.* *Plasmodium berghei* infection in mice induces liver injury by an IL-12- and Toll-like receptor/myeloid differentiation factor 88-dependent mechanism. *J. Immunol.* 2001 167 ;5928–5934.
- 53 Scanga, C. A. *et al.* Cutting edge: MyD88 is required for resistance to *Toxoplasma gondii* infection and regulates parasite-induced IL-12 production by dendritic cells. *J. Immunol.*2002 168;5997–6001.
- 54 Edelson, B. T. & Unanue, E. R. MyD88-dependent but Toll-like receptor 2-independent innate immunity to *Listeria*: No role for either in macrophage listericidal activity. *J. Immunol.* 2002 169;3869–3875.
- 55 Muraille, E. *et al.* Genetically resistant mice lacking MyD88-adaptor protein display a high susceptibility to *Leishmania major* infection associated with a polarized Th2 response. *J. Immunol.* 2003 170:4237–4241.
- 56 Burns, K. *et al.* Inhibition of interleukin 1 receptor/Tolllike receptor signaling through the alternatively spliced, short form of MyD88 is due to its failure to recruit IRAK-4. *J. Exp. Med.*2003 197;263–268.



- 57 Janssens, S., Burns, K., Vercammen, E., Tschopp, J. & Beyaert, R. MyD88s, a splice variant of MyD88, differentially modulates NF- $\kappa$ B- and AP-1-dependent gene expression. *FEBS Lett.* 2003 548;103–107.
- 58 Honda, K. *et al.* Role of a transductionaltranscriptional processor complex involving MyD88 and IRF-7 in Toll-like receptor signaling. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2004 101; 15416–15421.
- 59 Kawai, T. *et al.* Interferon- $\alpha$  induction through Toll-like receptors involves a direct interaction of IRF7 with MyD88 and TRAF6. *Nature Immunol.* 2004 5;1061–1068.
- 60 Honda, K. *et al.* Spatiotemporal regulation of MyD88–IRF7 signalling for robust type-I interferon induction. *Nature* 2005 434:1035–1040.
- 61 Hochrein, H. *et al.* Herpes simplex virus type-1 induces IFN- $\alpha$  production via Toll-like receptor 9-dependent and-independent pathways. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2004 101; 11416–11421.
- 62 Takaoka, A. *et al.* Integral role of IRF-5 in the gene induction programme activated by Toll-like receptors. *Nature* 2005 434; 243–249.
- 63 Rowe, D. C. *et al.* The myristoylation of TRIF-related adaptor molecule is essential for toll-like receptor 4 signal transduction. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2006 103; 6299– 6304.
- 64 McGettrick, A. F. *et al.* TRIF-related adapter molecule is phosphorylated by PKC $\epsilon$
- 65 María Guadalupe Reyes Garcia, Teresa Izquierdo Sanchez y Fernando García Tamayo. INFLAMACIÓN Mecanismos bioquimicos e inmunologicos del daño tisular y bases farmacologicas de su tratamiento.
- 66 Brown M. J. Yer Rawson, and J Goldstein. Regulated intramembrane porteolysis a control mechanism conserved from bacteria to humans cells. *Nature* 200 100:391-398
- 67 Ester Wand M. Walter. A portrait of Alzheimer Secretases new features an familiar fases. *Science* 2001 293: 1449-1459
- 68 Ghosh S. And M. Kann. Missing pieces in the NF-kappa B puzzle. *Cell* 2002 109 (suppl) S81-S96.



- 69 Haass, C and H Steiner. Alzheimer disease g-secretase a complex story GxCD- type presenilin patease. *Cell Biol* 2002 12.556-561.
- 70 Harrey Lodxhet. Molecular cell bilogy. 5<sup>a</sup> ed. Ed WH Freeman and Company. New York 2006. pp 602-604.
- 71 U Q and Verma M NF- $\kappa$ B. Regulation in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 725-734.
- 72 Silverman N, Maniatis T. NF- $\kappa$ B signaling pathways in mammalian and insect innate immunity. *Genes Dev* 2001; 15: 23212342.
- 73 Ghosh S, Karin M. Missing pieces in the NF- $\kappa$ B puzzle. *Cell* 2002; 109: S81 -S96.
- 74 Carlsen H, Alexander G, Austenaa L, Ebihara K, Blomhoff R. Molecular cloning of the transcription factor NF- $\kappa$ B, a primary regulator of stress response. *Mutat Res* 2004; 5 51: 199-211.
- 75 Udalova IA, Mott R, Field D, Kwiatkowski D. Quantitative prediction of NF- $\kappa$ B DNA-protein interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 8167- 8172.
- 76 Dejardin E, et al. The lymphotoxin- receptor induces different patierns of gene expression via two NF- $\kappa$ B pathways. *Immunity* 2002; 17: 525-535.
- 77 Tanaka M, et al. Embryonic lethality, liver degeneration, and impaired NF- $\kappa$ B activation in MB-deficient mice. *Immunity* 1999; 10: 421-429.
- 78 Yamamoto Y, Gaynor RB. I $\kappa$ B kinases: key regulators of the NF- $\kappa$ B pathway. *Trends Biochem Sci* 2004; 29: 72-79.
- 79 Yamaoka S, etal. Complementation cloning of NEMO, a component of the 1 KK complex essential for N F- $\kappa$ B activation. *Cell* 1998; 93: 1231-1240.
- 80 Rudolph D et al. Severe liver degeneration and lack of NF $\kappa$ B activation in NEMO/IKK??? deficient mice. *Genes Dev* 2000; 14: 854-862.
- 81 Takeda K, Takeuchi O, Tsujimura T, Itami S, Adachi O, Kawai T, Sanjo H, Yoshikawa K, Terada N, Akira S. Limb and skin abnormalities in mice lacking IKKs. *Science* 1999; 284: 313-316.



- 82 HuY, Baud V, Delhase M, ZhangP, Deerinck T, Ellisman M, Johnson R, Karin M. Abnormal morphogenesis but intact IKK activation in mice lacking the IKK $\gamma$  subunit of I $\kappa$ B kinase. *Science* 1999; 284: 316-320.
- 83 Greten FR, Eckmann L, Greten TF, Park JM, U ZW, Egan Lj, Kagnoff MF, Karin M. IKKbeta links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis associated cancer. *Cell*. 2004; 118: 285296.
- 84 Marx J. Cancer research. Inflammation and cancer: the link grows stronger. *Science*. 2004; 306: 966-968.
- 85 Clevers H. At the crossroads of inflammation and cancer. *Cell* 2004; 118: 671-674.
- 86 MI, McMorrow LB, Gravallesse EM. Nuclear factor $\kappa$ B in rheumatoid synovium: localization of p50 and p65. *Arthritis & Rheum* 1995; 38:1762-1770.
- 87 Benito MI, Murphy E, Murphy EP, van den Berg WB, FitzCerald O, Bresnihan B. Increased synovial tissue NF-kappa B1 expression at sites adjacent to the cartilage-pannus junction in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2004; 50:1781-1787.
- 88 Tak P, Firestein G. NF- $\kappa$ B: a key role in inflammatory disease. *J Clin Invest* 2001; 107: 7-11.
- 89 Tak PP, Gerlag DM, Aupperle KR, van de Geest DA, Overbeek M, Bennett BL, Boyle DL, Manning AM, Firestein GS Inhibitor of nuclear factor kappaB kinase beta is a key regulator of synovial inflammation. *Arthritis Rheum*. 2001 1 47:1897-1907.
- 90 Handel MI, McMorrow LB, Gravallesse EM. Nuclear factor $\kappa$ B in rheumatoid synovium: localization of p50 and p65. *Arthritis & Rheum* 1995; 38:1762-1770.
- 91 Liacini A, Sylvester J, Li WQ, Huang W, Dehnade F, Ahmad M, Zafarullah M. Induction of matrix metalloproteinase-1 3 gene expression by TNF-alpha is mediated by MAP kinases, AP-1, and NF-kappaB transcription factors in articular chondrocytes. *Exp Cell Res*. 2003; 288: 208-217.
- 92 Lliacini A, Sylvester J, Li WQ, Zafarullah M. Inhibition of interleukin-1-stimulated MAP kinases, activating protein-1 (AP-1) and nuclear factor kappa B (N F-kappa B) transcription factors down-regulates matrix metalloproteinase gene expression in articular chondrocytes. *Matrix Biol*. 2002; 21; 251-262.





- 93 Deschner J, Hofman CR, Piesco NP, Agarwal S. Signal transduction by mechanical strain in chondrocytes. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2003; 3: 2 89-293.
- 94 Yamamoto Y, Gaynor R. Therapeutic potential of inhibition of the NF- $\kappa$ B pathway in the treatment of inflammation and cancer. *J Clin Invest* 2001; 107; 135142.
- 95 Garg A, Aggarwal BB. Nuclear transcription factor- $\kappa$ B as a target for cancer drug development. *Leukemia* 2002; 16:10531068.
- 96 Largo R, Alvarez-Soria MA, Diez-Ortego I, Calvo E, Sánchez - Pernaute O, et al. Glucosamine inhibits IL-1 $\beta$ -induced NF $\kappa$ B activation in human osteoarthritic chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage*. 2003; 11: 290-298.
- 97 Firestein GS. NF- $\kappa$ B: Holy Grail for Rheumatoid Arthritis. *Arthritis & Rheum* 2004; 50: 2381-2386.
- 98 Bacher S, Schrnitz MI. The NF-kappaB pathway as a potential target for autoimmune disease therapy. *Curr Pharm Des*. 2004; 10: 2827-2837.
- 99 Feldmann M, Andreakos E, Smith C, Bondeson J, Yoshimura S, Kiriakidis S, Monaco C, Gasparini C, Sacre S, Luncíberg A, Paleolog E, Horwood NI, Brennan FM, Foxweil BM. Is NF-kappaB a useful therapeutic target in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2002; 61 Suppl 2: ii13-8
- 100 Smolen JS, Steiner G. Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Drug Discovery* 2003; 2:473-488.
- 101 Lewis AJ, Manning AM. New targets for anti-inflammatory drugs. *Curr Opin Chem Biol* 1999; 4: 489-94.
- 102 Aupperle K, Bennett B, Han Z, Boyle D, Manning A, Firestein G. NF- $\kappa$ B regulation by I $\kappa$ B kinase-2 in rheumatoid arthritis synoviocytes. *J Immunol* 2001; 166: 2705-2711.
- 103 A. Mera Varela, et al. Aproximación al coste de tratamiento farmacológico en la artritis reumatoide en España. *An Med Interna (Madrid)* 2003. Vol. 20, N.º 3, pp. 114-121.
- 104 Blumenauer B, et al. Quality of life in patients with rheumatoid arthritis : which drugs might make a difference? *Pharmacoeconomics*. 2003; 21(13): 927-40.



- 105 J. Schmidt, R. Gold, L. Schonrock, U.K. Zettl, H.P. Hartung and K.V. Toyka, T-cell apoptosis in situ in experimental autoimmune encephalomyelitis following methylprednisolone pulse therapy, *Brain* 123 (2000), pp. 1431–1441.
- 106 V.I. Leussink, S. Jung, U. Merschdorf, K.V. Toyka and R. Gold, High-dose methylprednisolone therapy in multiple sclerosis induces apoptosis in peripheral blood leukocytes, *Arch Neurol* 58 (2001), pp. 91–97.
- 107 W. Beck, P.A. Cleary, M.M. Anderson, J.L. Keltner, W.T. Shults and D.I. Kaufman et al., A randomized, controlled trial of corticosteroids in the treatment of acute optic neuritis. *N Engl J Med* 326 (1992), pp. 581–588.)
- 108 G. Cazzato, T. Mesiano, R. Antonello, F. Monti, N. Carraro and P. Torre et al., Double-blind, placebo-controlled, randomized, crossover trial of high-dose methylprednisolone in patients with chronic progressive form of multiple sclerosis. *Eur Neurol* 35 (1995), pp. 193–198.
- 109 D.E. Goodkin, R.P. Kinkel, B. Weinstock-Guttman, S. VanderBrug-Medendorp, M. Secic and D. Gogol et al., A phase II study of i.v. methylprednisolone in secondary-progressive multiple sclerosis. *Neurology* 51 (1998), pp. 239–245.
- 110 P.B. Andersson and D.E. Goodkin, Glucocorticosteroid therapy for multiple sclerosis: a critical review. *J Neurol Sci* 18 (1998), pp. 16–25.
- 111 M. Eggert, M. Schulz and G. Neeck, Molecular mechanisms of glucocorticoid action in rheumatic autoimmune diseases. *J Steroid Biochem Mol Biol* 77 (2001), pp. 185–191.
- 112 P. Herrlich, Cross-talk between glucocorticoid receptor and AP-1. *Oncogene* 20 (2001), pp. 2465–2475.
- 113 M. Eggert, A. Kluter, U.K. Zettl and G. Neeck, Transcription factors in autoimmune diseases. *Curr Pharm Des* 10 (2004), pp. 2787–2796.)
- 114 Kim A. Brogden, Virulence Mechanism of Bacterial Pathogens, 3<sup>a</sup> Ed. USA 200 pp 194-195.
- 115 Carminati, P., Gallo, G., Ruggiero, V., Sassano, M., Mastroianni, D. *MyD88 homodimerization inhibitors Patent No. WO2006067091*



- 116 Basu, A., Krady, J. K., Levison, S. W. (2004) Interleukin-1: a master regulator of neuroinflammation *J. Neurosci. Res.* 78,151-156
- 117 Cook, D. N., Pisetsky, D. S., Schwartz, D. A. (2004) Toll-like receptors in the pathogenesis of human disease *Nat. Immunol.* 5,975-979
- 118 Maria Loiarro', Federica Capolunghi, et al. Pivotal Advance: Inhibition of MyD88 dimerization and recruitment of IRAK1 and IRAK4 by a novel peptidomimetic compound. *Journal of Leukocyte Biology.* 2007;82:801-810.
- 119 Hoffman, E. S., Smith, R. E., Jr, Renaud, R. C. (2005) TLR-targeted therapeutics *Nat. Rev. Drug Discov.* 4,879-880
- 120 Wickelgren, I. Targeting the Tolls *Science* 2006 312;184-187
- 121 Ulevitch, R. J. Therapeutics targeting the innate immune system *Nat. Rev. Immunol.* 2004 4;512-520
- 122 O'Neill, L. A. (2006) How Toll-like receptors signal: what we know and what we don't know *Curr. Opin. Immunol.* 18;3-9
- 123 Bartfai, T., Behrens, M. M., Gaidarova, S., Pemberton, J., Shivanyuk, A., Rebek, J., Jr A low molecular weight mimic of the Toll/IL-1 receptor/resistance domain inhibits IL-1 receptor-mediated responses *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003 100;7971-7976
- 124 Davis, C. N., Mann, E., Behrens, M. M., Gaidarova, S., Rebek, M., Jr, Rebek, J., Bartfai, T. (2006) MyD88-dependent and -independent signaling by IL-1 in neurons probed by bifunctional Toll/IL-1 receptor domain/BB-loop mimetics *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006 103;2953-2958
- 125 Janssens, S., Burns, K., Tschopp, J. & Beyaert, R. (2002) *Curr. Biol.* 12:, 467-471.
- 126 Couchman, K.G. and H. Sheppard. The effect of anti-rheumatic drugs on factors from porcine synovium inducing chondrocyte mediated cartilage degradation. *Agents Actions*, 19, 116, 1986
- 127 Sheppard. H. L.M.C. Pilsworth, B. Hazleman, and J. T. Dingle. Effect of antirheumatoid drugs on the production and action of porcine catabolins. *Ann Rheum. Dis.*, 41, 463, 1982.



- 128 Mochan, E. J. Uhl and R. Newton. Evidence that interleukin-1 induction of synovial cell plasminogen activator is mediated via prostaglandin  $E_2$  and CAM . *Arthr. Rheum.* 29, 1078, 1986
- 129 Butler. D.M. D.S Piccoli. P. H. Hart, and J.A. Hamilton. Stimulation of human synovial fibroblast DNA synthesis by recombinant human cytokine. *J. Rheumatol.*, 15, 1463, 1988
- 130 Bradwein, S, R, Regulation of interleukin 1 production by mouse peritoneal macrophages: effects of arachidonic acid metabolites, cyclic nucleotides and interferons. *J. Biol. Chem.*, 261, 8624, 1986.
- 131 Kunkel. S. L., S.W. Chensue, and S. Phan, Prostaglandins as endogenous mediators of interleukin 1 production. *J. Immunol.*, 136. 186, 1986.
- 132 Dinarello, C. A., Interleukin-1. *Rev. Infect. Dis.*, 61, 51, 1984
- 133 Lee. J. C., D. E. Griswold, B. Votta and N. Hanna, Inhibition of monocyte IL-1 production by the anti-inflammatory compound. SK&F 86002. *Int. J. Immunopharmacol*, 838, 1988.
- 134 Fauci. A.S. Mechanisms of the immunosuppressive and anti-inflammatory effects of glucocorticosteroids. *J. Immunopharmacol.*, 1, 1-25, 1978
- 135 Johnson. W. J. MJ. DiMartino, P.C. Meunier, K.A Muirheard, and N. Hanna. Methotrexate inhibits macrophage activation as well as vascular and cellular inflammatory events in rat adjuvant induced arthritis. *J. Rheumatol.* 15, 745, 1988
- 136 Connolly K.M. V. J. Stecher , T. LaBrie and C. Fluno. Modulation of the acute phase response and in vitro measurement of interleukin-1 activity following administration of dexamethasone to adjuvant arthritic rats. *Immunopharmacology*, 15, 133, 1988.

## 12.1 BIBLIOGRAFIA IMÁGENES

- 137 Bruce Alberts. *Biología molecular de la célula*. 3ª ed. Ed Omega. Barcelona 2002.
- 138 [www.gaucher.org.co/htm/cont2.htm](http://www.gaucher.org.co/htm/cont2.htm)
- 139 Roitt. Brostoff. Male. *Inmunología* 5ª ed. Ed. Mosby 2005



- 140 [www.biochemsoctrans.org/.../0551/bst0280551.htm](http://www.biochemsoctrans.org/.../0551/bst0280551.htm)
- 141 Luke A. J. O'Neill and Andrew G. Bowie. The family of five: TIR-domaincontaining adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nature Review Immunology* 2007;7: 353- 364
- 142 Gloria Gutiérrez-Venegas y Patricia Cardoso-Jiménez. "Acido Lipoteicoico: receptores y mecanismo de transduccion". *REB* 25(2): 41-49, 2006
- 143 Flo TH, Halaas O, Lien E, Ryan L, Teti G, Golenbock DT, Sundan A, Espevik T. Human toll-like receptor 2 mediates monocyte activation by listeria monocytogenes, but not by group B streptococci or lipopolysaccharide. *Journal of Immunology*
- 144 *Señalización de MyD88*. Luke A. J. O'Neill and Andrew G. Bowie. The family of five: TIR-domaincontaining adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nature Review Immunology* 2007;7: 353- 364
- 145 *Importancia MyD88, crucial para continuar con la vía de señalización de citocinas inflamatorias* [www.biochemsoctrans.org/.../0551/bst0280551.htm](http://www.biochemsoctrans.org/.../0551/bst0280551.htm)
- 146 Vía dependiente e independiente de MyD88. Taro Kawai a,b, Shizuo Akira. TLR signaling. *Seminars in Immunology* 2007
- 147 Figura artritis reumatoide [healthlibrary.epnet.com/GetContent.aspx?token](http://healthlibrary.epnet.com/GetContent.aspx?token)
- 148 Vía de transducción de la IL-1 y TNF de articulo
- 149 *Anatomía de los sistemas nervioso central y periférico, en donde se instalan las lesiones de la Esclerosis Múltiple sacada de internet.* [www.tusalud.com.mx](http://www.tusalud.com.mx)
- 150 [es.wikipedia.org](http://es.wikipedia.org)
- 151 Molécula *Hidrocinaoil-L-valil pirrolidin*, Bartfai, T., Behrens, M. M., Gaidarova, S., Pemberton, J., Shivanyuk, A., Rebek, J., Jr A low molecular weight mimic of the Toll/IL-1 receptor/resistance domain inhibits IL-1 receptor-mediated responses *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003 100;7971-7976

