



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

RECEPTORES TIPO TOLL (TLR3).

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

BRENDA ANGÉLICA GAVILÁN RUIZ

TUTOR: Dra. GLORIA GUTIÉRREZ VENEGAS

ASESORES:

MÉXICO, D.F.

2010



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.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme fuerzas en esos momentos amargos de la vida, por nunca dejarme sola.

A MI MAMÁ GRACIAS, por regalarme lo más hermoso, LA VIDA, por el gran apoyo que me brindó durante toda mi vida, porque a pesar de todos los tropiezos que tuvimos, tú siempre estuviste a mi lado y me diste fuerzas para poder levantarme y seguir adelante, por haberme enseñado a valorar lo mucho o poquito que nos podías dar, por trabajar tanto y tan duro por querer darnos siempre lo mejor, por todos los consejos que me diste, eres una mujer admirable y luchona por conseguir lo que se propone, gracias por ser una gran madre, una gran amiga, y por proteger y cuidar siempre de mi niño. TE AMO.

A MIS HERMANOS.

MARIO. Gracias por tú apoyo incondicional, por hacerme ver siempre la realidad de la vida y por estar conmigo siempre. GRACIAS. TE QUIERO MUCHO.

LALO. Gracias por todas tús palabras y consejos que siempre me diste, por preocuparte siempre y en todo momento por mi, y por el gran apoyo que me diste durante toda la carrera. GRACIAS. TE QUIERO MUCHO.

A MI HIJO DIEGO. Le doy gracias a Dios por haberme permitido realizarme como mujer, es el mejor regalo que me pudo dar la vida, y por ser fruto del gran amor de mi vida, GRACIAS DIEGO (mi gusanito) por entender a pesar de estar pequeñito, que no podía estar a tu lado en todo momento como yo hubiese querido, quiero que sepas QUE TÚ LLEGASTE a iluminar mi vida, gracias por mostrarme la alegría de vivir. TE AMO mi niño.

A MIS TÍOS. (ARTURO, JOSÉ MANUEL Y EUDO) GRACIAS, por todo el apoyo que me brindaron a mi y a mi familia en los momentos más difíciles, y durante toda mi carrera, por todos sus consejos, por cuidarnos y protegernos siempre y por querer tanto a Diego. LOS QUIERO MUCHÍSIMO.

A MARIO FERNANDO. Le doy gracias a dios por haber puesto en mi camino al amor de mi vida a pesar de los obstáculos que tuvimos, gracias por todos tus consejos, por enseñarme el gran valor de la vida y a valorar las cosas que con mucho trabajo se obtienen, por estar conmigo siempre en todo momento, por el gran apoyo que me diste durante la carrera y por haberme dado la dicha de ser mamá, TE AMO con toda mi alma y gracias a tu mamá y a Evelyn por tanto apoyo que nos han brindado y por ver y proteger siempre a mi niño. GRACIAS.

A MIS AMIGOS. (SONHIRI, MIRIAM, GUSTAVO Y MARIO MANCILLA). Gracias por creer en mi, por dejarme entrar a su vida y por apoyarme siempre en todo momento, los quiero mucho, MEJORES AMIGOS NO PUDE HABER ENCONTRADO.

A LA DOCTORA GLORIA GUTIÉRREZ. GRACIAS por apoyarme durante la fase final de mi vida escolar , y por el tiempo que me dedicó para la elaboración de este trabajo.

A la UNAM, porque me siento muy orgullosa de haber estudiado en la MÁXIMA CASA DE ESTUDIOS, soy ORGULLOSAMENTE UNAM!!!!

ÍNDICE.

1. INTRODUCCIÓN.	5
1.1. Inmunidad innata y adaptativa.	5
1.2. Tipos de respuestas inmunitarias adaptativas.	6
1.3. Características principales de las respuestas inmunitarias adaptativas.	7
1.4. Componentes celulares del Sistema Inmunitario Adaptativo.	9
1.5. Introducción a las Respuestas Inmunitarias contra los microbios.	10
1.5.1. Primeras fases de la respuesta inmunitaria innata a los microbios.	10
1.5.2. Capacitación y muestra de los antígenos microbianos.	12
1.5.3. Reconocimiento del antígeno por parte de los linfocitos.	13
1.5.4. Inmunidad celular: Activación de los linfocitos T y eliminación de los microbios intracelulares.	14
1.5.5. Inmunidad humoral: Activación de los linfocitos B y eliminación de los microbios extracelulares.	15
1.5.6. Memoria inmunitaria.	16
2. GENERALIDADES DE LA INMUNIDAD INNATA.	17
2.1. Adaptativa.	17
2.2. Linfocitos.	18
2.3. Células T asesinas.	19
2.4. Linfocitos T colaboradores.	20
2.5. Innata.	21
2.6. Células de la respuesta inmunitaria innata.	23
2.6.1. Leucocitos.	23
2.6.2. Fagocitos.	24
2.6.3. Macrófagos.	25
2.6.4. Neutrófilos.	25
2.6.5. Células dendríticas.	26
2.6.6. Basófilos y eosinófilos.	27
3. PATRONES MOLECULARES ASOCIADOS A PATÓGENOS.	28
4. RECEPTORES DE LA INMUNIDAD INNATA.	30
4.1. Receptores activadores.	31
4.2. CD16.	31
4.3. CD2.	32
4.4. CD28.	32
4.5. CD161 (NKR-P1).	33
4.6. Otros receptores activadores.	33
4.7. Receptores inhibidores.	33
4.8. KIR.	34
4.9. Ly49 (KRL).	35
4.10. Acción de las células natural killer (NK o asesinas naturales).	36
5. RECEPTORES TIPO TOLL.	36
5.1. Contexto histórico.	36
5.2. Ligando que activa el receptor.	40
5.2.1. TLR3.	40
5.2.2. Factor de transcripción nuclear kB (NF-Kb).	40
5.2.3. Proceso de activación del NF- kB.	44
5.2.4. NF- kB y células vasculares. Estudios in vitro.	44
5.2.5. Ligandos TLR3.	44
5.2.6. Polimorfismos en el TLR3.	46
5.2.7. Modulación viral de la actividad de NFkB	46
5.2.8. Factor nuclear-kB (NFkB).	47
5.3. Detección de estímulos.	48

5.3.1. Ligandos TLR.	48
5.4. El papel del TRIF en la activación transcripcional.	49
5.5. Transducción de señales.	49
5.5.1. Módulo IRF3.	50
5.5.2. Módulo NF-KB.	50
5.5.3. Módulo AP1.	51
5.5.4. Activación de P13-AKT.	51
6. ESTRUCTURA DEL RECEPTOR.	51
6.1. Expresión de Receptores TLR3 y localización subcelular	58
6.2. Regulación del Receptor TLR3.	60
6.3. Evasión viral y subversión del patrón de reconocimiento del receptor señalado.	61
6.3.1. TLRs y virus.	65
6.3.2. La evasión viral de la vía de señalización de los TLR	64
6.3.3. RLRs y virus.	70
6.3.4. Interferencia con RIG-I y señalización MDA5.	73
6.3.5. Inhibición viral del IRF3 e IRF7 y activación del nivel de IKKs.	73
6.3.6. Más allá de la inhibición: subversión viral de PRRs.	76
7. CONCLUSIONES.	77
8.- CITAS BIBLIOGRÁFICAS.	78

1.- INTRODUCCIÓN.

1.1. INMUNIDAD INNATA Y ADAPTATIVA.

La respuesta inmunitaria innata y adaptativa son los ingredientes de un sistema integral encargado de defender al huésped, en el que funcionan numerosas células y moléculas de modo conjunto. Los mecanismos de la inmunidad innata suministran una primera defensa eficaz contra las infecciones. Muchos microorganismos patógenos han evolucionado hasta ser resistentes a la inmunidad innata, y su eliminación exige aquellos mecanismos más potentes de la inmunidad adaptativa. La respuesta inmunitaria innata a los microbios también estimula las respuestas inmunitarias adaptativas e influye sobre su naturaleza.

La inmunidad innata (también llamada inmunidad natural o espontánea) aporta la primera línea de defensa frente a los microbios. Está constituida por unos mecanismos de defensa celulares y bioquímicos ya presentes incluso antes de contraerse la infección y preparados para responder con rapidez una vez producida la invasión de patógenos.

Los principales componentes de la inmunidad innata son:

- 1.-Barreras físicas y químicas, como los epitelios y las sustancias antimicrobianas formadas en sus superficies.
- 2.- Células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos) y linfocitos citolíticos naturales (NK).
- 3.-Proteínas sanguíneas, como los factores del sistema del complemento y otros mediadores de la inflamación,
- 4.-Unas proteínas denominadas citosinas, que regulan y coordinan muchas de las actividades de las células encargadas de la inmunidad innata.

Los mecanismos de la inmunidad innata son específicos para aquellas estructuras comunes a los grupos de microbios afines y no pueden distinguir de las sustancias ajenas.

La inmunidad adaptativa es la respuesta a una infección y se activa para combatir la presencia de patógenos adapta. Sus características son la especificidad frente a diversas moléculas y la propiedad de "recordar" las exposiciones repetidas al mismo microbio para responder con mayor energía. Además, posee unas dotes

extraordinarias para distinguir entre los distintos microorganismos y moléculas, incluso los muy afines entre sí, y por esta razón recibe también el nombre de inmunidad específica. Los principales componentes de la inmunidad adaptativa son unas células llamadas linfocitos y sus productos de secreción, como los anticuerpos. Las sustancias ajenas que suscitan una respuesta inmunitaria específica o que constituyen el blanco de tales respuestas son los antígenos.

1.2. TIPOS DE RESPUESTAS INMUNITARIAS ADAPTATIVAS.

Existen 2 tipos, llamadas constituidas por la inmunidad humoral y otra por la inmunidad celular, en las que intervienen diferentes componentes del sistema inmunitario y que sirven para eliminar microbios de distintos tipos.

La inmunidad humoral cuenta con unas moléculas presentes en la sangre y en las secreciones mucosas, que reciben el nombre de anticuerpos, producidas por unas células denominadas linfocitos B. Los anticuerpos reconocen los antígenos microbianos, neutralizan la infecciosidad de los microorganismos y los marcan como una diana para su eliminación por diversos mecanismos efectores. La inmunidad humoral es el principal mecanismo de defensa contra los microbios extracelulares y sus toxinas, debido a que los anticuerpos segregados pueden unirse a ellos y contribuir a su destrucción.

Los propios anticuerpos, son proteínas altamente especializadas, y cada tipo diferente puede activar mecanismos efectores distintos.

La inmunidad celular queda a cargo de los linfocitos T (también llamados células T). Los microbios intracelulares, como los virus y algunas bacterias, sobreviven y proliferan en el interior de los fagocitos y de otras células del huésped, donde los anticuerpos circulantes no los tienen a su alcance. La defensa contra estas infecciones corresponde a la inmunidad celular, que fomenta la destrucción de los microorganismos residentes en los fagocitos o la desaparición de las células infectadas para suprimir los reservorios de la infección.

El tipo de inmunidad que se activa por la exposición a un antígeno extraño se denomina INMUNIDAD ACTIVA porque la persona inmunizada cumple una función importante en la respuesta al antígeno. Por otra parte, los linfocitos que no han tropezado aún con un antígeno concreto reciben el nombre de linfocitos vírgenes, lo que quiere decir que carecen de experiencia inmunitaria.

La INMUNIDAD PASIVA es un método útil para dar lugar a una resistencia con rapidez, sin tener que esperar al desencadenamiento de una respuesta inmunitaria activa.

1.3. CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE LAS RESPUESTAS INMUNITARIAS ADAPTATIVAS.

Todas las respuestas inmunitarias humorales y celulares están dirigidas contra los antígenos extraños poseen una serie de propiedades fundamentales que reflejan las características de los linfocitos encargados de su producción.

-ESPECIFICIDAD Y DIVERSIDAD. Las respuestas inmunitarias son específicas frente a los distintos antígenos y, de hecho, también frente a las diversas porciones de un solo complejo proteínico, de un polisacárido o de cualquier otra macromolécula. Los elementos de tales antígenos que son reconocidos específicamente por ciertos linfocitos se denominan determinantes o epítomos. Esta especificidad, tan exquisita, obedece a que cada linfocito expresa receptores de membrana capaces de discernir entre diferencias tan sutiles como en la estructura de dos antígenos distintos. El número total de especificidades antigénicas que presentan los linfocitos de una sola persona es elevadísimo. Se calcula que el sistema inmunitario de cada individuo es capaz de distinguir entre 10^7 y 10^9 determinantes antigénicos diferentes. Esta propiedad que caracteriza al repertorio linfocítico se denomina diversidad, y surge como consecuencia de la variabilidad que posee la estructura de los lugares de unión antigénica en los receptores linfocíticos destinados a los antígenos. Existen muchos clones distintos de linfocitos que difieren en la estructura de sus receptores del antígeno y, por tanto, en sus especificidad hacia los antígenos, lo que sirve para aglutinar un repertorio total sumamente diverso.

-MEMORIA. La exposición del sistema inmunitario a un antígeno extraño favorece su capacidad para responder de nuevo a ese mismo antígeno. Las respuestas a esta segunda exposición y a las sucesivas, llamadas respuestas inmunitarias secundarias, suelen ser más rápidas y amplias que la primera respuesta inmunitaria a ese antígeno, o primaria, y a menudo son cualitativamente diferentes. La memoria inmunitaria en parte se debe a que cada exposición repetida a un antígeno amplía la diversidad clonal de linfocitos específicos dirigidos contra él. La estimulación de los linfocitos vírgenes por un antígeno da origen a células de memoria longevas que poseen unas características

especiales para aumentar la eficiencia en la respuesta correspondiente y en la eliminación del antígeno por encima de lo que sucede en aquellos linfocitos vírgenes sin una exposición previa a ese antígeno.

-EXPANSIÓN CLONAL. Los linfocitos experimentan una considerable proliferación tras su exposición a un antígeno. El término expansión clonal designa un aumento de la cantidad de células que expresan receptores idénticos frente al mismo antígeno y, por tanto, que pertenecen a un clon. Este crecimiento de las células específicas frente a un antígeno permite a la respuesta inmunitaria adaptativa seguir el ritmo de los patógenos infecciosos que se dividen con rapidez.

-ESPECIALIZACIÓN. El sistema inmunitario responde de manera distinta y especial a los diversos microorganismos, lo que aumenta al máximo la eficacia de los mecanismos de defensa antimicrobiana. Por tanto, son diferentes las clases de microbios que desencadenan la inmunidad humoral y la celular o las fases de la infección por las que pasa el mismo microbio (extracelular e intracelular), y cada tipo de respuesta inmunitaria protege al huésped contra esa clase concreta de microorganismo.

-CONTENCIÓN Y HOMEOSTASIS. Todas las respuestas inmunitarias normales declinan con el paso del tiempo después de su estimulación por el antígeno, con lo que el sistema inmunitario recupera su estado basal de reposo, situación llamada homeostasis. Esta contención de las respuestas inmunitarias tiene lugar básicamente porque las reacciones desencadenadas por los antígenos sirven para eliminarlos, y esto suprime así el estímulo esencial que permite la supervivencia y la activación de los linfocitos. Una vez privados de estos estímulos, los linfocitos mueren por apoptosis.

-FALTA DE REACTIVIDAD FRENTE A SÍ MISMO. La tolerancia frente a los antígenos propios, o autotolerancia, se conserva por diversos mecanismos. Entre ellos figura la eliminación de aquellos linfocitos que expresen receptores específicos frente a algunos antígenos propios y la creación de las condiciones oportunas para que los linfocitos entren en contacto con otros antígenos propios en un contexto que dé lugar a su inactivación funcional o a su muerte cuando sean autorreactivos.

Las alteraciones que afectan a la inducción o a la conservación de la autotolerancia originan respuestas inmunitarias contra los antígenos propios (autoantígenos), que muchas veces desembocan en unos trastornos llamados enfermedades autoinmunitarias.

1.4. COMPONENTES CELULARES DEL SISTEMA INMUNITARIO ADAPTATIVO.

Los linfocitos son las células que reconocen los antígenos extraños de manera específica y responden contra ellos, por lo que constituyen los mediadores de la inmunidad humoral y celular. Los linfocitos B son las únicas células capaces de producir anticuerpos. Reconocen los antígenos extracelulares y se diferencian en células plasmáticas secretoras de anticuerpos, por lo que actúan como mediadores de la inmunidad humoral. Los linfocitos T, son las células de la inmunidad celular, reconocen los antígenos de los microorganismos intracelulares y sirven para destruir estos microbios o las células infectadas. Los linfocitos T no producen moléculas de anticuerpo. Sus receptores del antígeno son moléculas de membrana distintas de ellos, pero dotadas de una estructura afín. Estas células presentan una especificidad restringida hacia los antígenos; no reconocen más que los de tipo peptídico después de unirse a unas proteínas del huésped codificadas por los genes pertenecientes al complejo mayor de histocompatibilidad. (MHC) y de expresarse sobre las superficies de otras células. Reconocen y responden a los antígenos asociados a una superficie celular, pero no a los solubles. Los linfocitos T constan de distintas poblaciones desde el punto de vista funcional; las que están mejor caracterizadas son los linfocitos T cooperadores y los linfocitos T citotóxicos o citolíticos (CD4). A raíz de la estimulación antigénica, los linfocitos T cooperadores segregan unas proteínas llamadas citosinas, cuyas funciones consisten en poner en marcha la proliferación y la diferenciación de los propios linfocitos T y activar diversas células, como los linfocitos B, los macrófagos y otros leucocitos. Los linfocitos destruyen las células productoras de antígeno extraños, como las que están infectadas por virus y otros microbios intracelulares. Algunos linfocitos T, denominados linfocitos T reguladores, sirven para inhibir las respuestas inmunitarias. Una tercera clase de linfocitos, citotóxicos, los asesinos naturales (NK), participan en la inmunidad innata contra los virus y otros microorganismos intracelulares. Las diversas clases de linfocitos pueden distinguirse por la expresión de unas proteínas de superficie que reciben el nombre de <moléculas CD> y están numeradas.

El inicio de las respuestas inmunitarias adaptativas y su desarrollo requiere de la presencia de antígenos y su exposición ante linfocitos específicos. Las células que cumplen esta misión se denominan células presentadoras de antígenos (CPA). Las más especializadas son las

células dendríticas, que son las encargadas de atrapar los antígenos microbianos que penetran desde el medio externo y son transportarlos hacia los órganos linfáticos y presentárselos a unos linfocitos T “vírgenes” para desencadenar las respuestas inmunitarias. Otros tipos celulares también actúan como CPA en diversas etapas de las respuestas inmunitarias tanto celular y como humoral.

La activación de los linfocitos por los antígenos provoca la puesta en marcha de numerosos mecanismos destinados a eliminar su presencia. Este objetivo suele entrañar la participación de unas células llamadas células efectoras porque intervienen en los efectos finales obtenidos con la respuesta inmunitaria, que consiste en deshacerse del patógeno. Los linfocitos T activados, los fagocitos mononucleares y otros leucocitos actúan como células efectoras en sus distintas modalidades. Los linfocitos y las CPA se encuentran concentrados en los órganos linfáticos, donde interaccionan entre sí para poner en marcha las respuestas inmunitarias. Los linfocitos también están presentes en la sangre, desde ella, pueden volver a circular hacia los tejidos linfáticos y hacia los lugares periféricos expuestos a los antígenos para proceder a su eliminación.

1.5. INTRODUCCIÓN A LAS RESPUESTAS INMUNITARIAS CONTRA LOS MICROBIOS.

1.5.1. PRIMERAS FASES DE LA RESPUESTA INMUNITARIA INNATA A LOS MICROBIOS.

El sistema inmunitario innato obstaculiza la entrada de los microorganismos y elimina o limita el crecimiento que presentan muchos de los que son capaces de colonizar los tejidos. Los principales puntos de interacción entre las personas y su medio –la piel y los aparatos digestivo y respiratorio- se encuentran revestidos por epitelios continuos, que actúan como barreras para impedir la entrada de los microbios procedentes del medio externo. Si estos patógenos, al final abren con éxito una brecha en estas barreras epiteliales, tropiezan con los macrófagos en el tejido subepitelial. Los macrófagos expresan receptores sobre su superficie que se unen a los microorganismos y los ingieren, así como otros que reconocen distintas moléculas microbianas y activan las células.

Los macrófagos activados cumplen diversas funciones que sirven en conjunto para eliminar los microorganismos ingeridos. Estas células

producen especies reactivas del oxígeno y enzimas lisosómicas, que permiten su destrucción.

Los macrófagos segregan citocinas para favorecer los mecanismos atractivos a otros leucocitos, como los neutrófilos, desde los vasos sanguíneos hasta el foco de infección. Las citocinas son unas proteínas de origen secretor a cuyo cargo corren muchas de las respuestas celulares correspondientes a la inmunidad innata y la adaptativa y, por tanto actúan como unas "moléculas mensajeras" del sistema inmunitario. La acumulación local de leucocitos y su activación para destruir los microbios forman parte de la respuesta del huésped llamada inflamación. La respuesta inmunitaria innata frente a ciertos patógenos infecciosos, en especial los virus, está integrada por la producción de unas citosinas antivíricas denominadas interferones y la activación de los linfocitos NK, que destruyen las células infectadas por los virus.

Los microbios capaces de resistir estas reacciones de defensa pueden penetrar al torrente sanguíneo, donde son reconocidos por las proteínas circulantes encargadas de la inmunidad innata. Las proteínas plasmáticas más importantes en este proceso son los componentes del sistema del complemento. Las proteínas del complemento pueden activarse directamente por las superficies microbianas (vía alternativa de la activación), y esto deriva en la generación de productos de degradación que ejercen diversas acciones: estimulan la inflamación, cubren a los microorganismos para favorecer la fagocitosis y abren los orificios en las membranas de las células microbianas, lo que conduce a su lisis.

Las reacciones de la inmunidad innata poseen una notable eficacia para controlar muchas infecciones, e incluso erradicarlas. Sin embargo, un rasgo distintivo de los microbios patógenos es que su evolución les ha permitido resistir la inmunidad innata e invadir con éxito las células y los tejidos del huésped, y multiplicarse en ellos. La defensa contra estos patógenos requiere emplear los mecanismos más potentes y especializados de la inmunidad adaptativa.

El sistema inmunitario adaptativo recurre a tres estrategias principales para combatir la mayoría de los microbios.

-Los anticuerpos segregados se unen a los microorganismos extracelulares, bloquean su capacidad para infectar las células del

huésped y favorecen su ingestión por los fagocitos y su destrucción posterior.

Los fagocitos ingieren los microbios y los destruyen, y los linfocitos T cooperadores fomentan sus capacidades microbicidas. Los LTC destruyen las células infectadas por los microbios que permanezcan inaccesibles a los anticuerpos.

El objetivo de la respuesta adaptativa consiste en activar uno o varios de estos mecanismos de defensa contra los diversos microbios que puedan hallarse presentes en distintos lugares anatómicos, como la luz intestinal, la circulación o el interior de las células. Una característica del sistema inmunitario adaptativo es que produce una gran cantidad de linfocitos durante su maduración y después de recibir una estimulación antigénica, y entre ellos elige aquellas células más útiles para combatir los microorganismos.

Esta selección potencia al máximo la eficacia de la respuesta inmunitaria adaptativa. Todas ellas tienen lugar por pasos, correspondientes en cada caso a una reacción particular de los linfocitos.

1.5.2. CAPACITACIÓN Y MUESTRA DE LOS ANTÍGENOS MICROBIANOS.

Cómo el número de linfocitos vírgenes que son específicos de cualquier antígeno es muy pequeño, y la cantidad de antígeno disponible también puede serlo, hace falta la existencia de unos mecanismos especiales para captar los microbios, concentrarlos en el lugar correcto y exponer sus antígenos a los linfocitos específicos.

Las células dendríticas son las CPA que muestran los péptidos microbianos a los linfocitos T, CD⁴⁺ y CD⁸⁺ vírgenes y ponen en marcha las respuestas inmunitarias adaptativas contra los antígenos proteínicos. Las que se encuentran situadas en los epitelios y los tejidos conjuntivos atrapan los microorganismos, dirigen su proteínas en péptidos y los expresan en su superficie unidos a las moléculas del CPH, que están especializadas en la presentación de péptidos. Las células dendríticas transportan su cargamento antigénico hasta los ganglios linfáticos de drenaje y fijan su residencia en las mismas regiones ganglionares por las que constantemente recirculan los linfocitos T vírgenes. Por tanto, la concentración del antígeno bajo una forma reconocible en el lugar anatómico correcto dispara claramente las posibilidades de que un linfocito encuentre aquel antígeno al que correspondan sus receptores. Las células dendríticas también se

encargan de exhibir en otros tejidos linfáticos los péptidos de los microbios que penetran, como en el bazo.

Los microorganismos íntegros o los antígenos microbianos que llegan a los ganglios linfáticos y al bazo son reconocidos por linfocitos B específicos en su forma sin procesar (natural). También hay CPA especializadas que muestran los antígenos a los linfocitos B.

1.5.3. RECONOCIMIENTO DEL ANTÍGENO POR PARTE DE LOS LINFOCITOS.

Antes de la exposición al antígeno, ya existen linfocitos que son específicos frente a toda una gran variedad, y cuando penetra uno de ellos, selecciona sus células particulares y las activa.

Este concepto fundamental recibe el nombre de **Hipótesis de la selección clonal**. Niels Jerne lo propuso por vez primera en 1955. y Macfarlane Burnet lo enunció con mayor claridad en 1957, como una hipótesis que pretendía explicar la capacidad del sistema inmunitario para responder a una gran cantidad y diversidad de antígenos. Según esta teoría, antes de la exposición a un antígeno aparecen clones linfocíticos específicos con independencia de este proceso. Las células integrantes de cada clon tienen unos receptores del antígeno idénticos entre sí, pero diferentes a los observados sobre las células de todos los demás clones. En linfocitos T y B se calcula que existen más de 1, 000,000 de especificidades diferentes, por lo que el sistema inmunitario adaptativo puede reconocer como mínimo un número equivalente de determinantes antigénicos.

La activación de los linfocitos T vírgenes exige el reconocimiento de los complejos péptido-CPH presentados por las células dendríticas. La naturaleza del antígeno que activa los linfocitos T (la de los péptidos unidos a las moléculas del CPH) garantiza que su interacción no tenga lugar más que con otras células (ya que las moléculas del CPH son proteínas de la superficie celular) y no con el antígeno libre. Para emitir su respuesta, no sólo han de reconocer los antígenos, sino también otras moléculas, llamadas coestimuladores, cuya inducción por los microbios ocurre en las CPA. El reconocimiento del antígeno suministra especificidad a la respuesta inmunitaria, y el requisito de la coestimulación aporta la seguridad de que los linfocitos T respondan a los microbios (los inductores de las moléculas coestimuladoras) y no a una sustancia inocua.

Los linfocitos B utilizan sus receptores del antígeno (moléculas de anticuerpos ligadas a la membrana) para reconocer múltiples tipos químicos de antígenos diferentes.

La movilización de los receptores del antígeno y de otras señales desencadena la proliferación de los linfocitos y su diferenciación. Las reacciones de los linfocitos T y B y sus funciones difieren en una proporción considerable, y parece preferible examinarlas por separado.

1.5.4. INMUNIDAD CELULAR: ACTIVACIÓN DE LOS LINFOCITOS T Y ELIMINACIÓN DE LOS MICROBIOS INTRACELULARES.

Los linfocitos T cooperadores CD4⁺ proliferan al activarse y se diferencian en células efectoras cuyas funciones básicamente corren a cargo de las citocinas segregadas. Una de las primeras respuestas ofrecidas por estas células consiste en la secreción de la citosina interleucina 2 (IL-2). La IL-2 es un factor de crecimiento que actúa sobre los linfocitos ya activados por un antígeno y estimula su proliferación. Una parte de su descendencia se diferencia en células efectoras capaces de segregar toda una colección variada de citocinas y, por tanto, de cumplir funciones distintas. Estas células efectoras abandonan los órganos linfáticos donde surgieron y emigran hacia los focos de infección afectados por una inflamación concomitante. Cuando los efectores diferenciados vuelven a tropezar con los microbios asociados a las células, quedan activados para ejercer las funciones responsables de su eliminación. Algunos linfocitos T efectoras pertenecientes a la estirpe de los linfocitos cooperadores CD4⁺ segregan la citosina interferón γ , que constituye un potente activador de los macrófagos en los que suscita la producción de sustancias microbicidas. Estos linfocitos T cooperadores son capaces de reconocer los antígenos microbianos presentes sobre aquellos macrófagos que hayan fagocitado los microorganismos y ayudan a los fagocitos que hayan fagocitado los microorganismos y ayudan a los fagocitos en su labor de destruir los patógenos infecciosos. Otros linfocitos T efectoras CD4⁺ segregan citocinas que estimulan la producción de una clase especial de anticuerpos llamados inmunoglobulina E (IgE) y activan unos leucocitos denominados eosinófilos, que tienen la propiedad de eliminar aquellos parásitos demasiado grandes para su fagocitosis. Los linfocitos CD8⁺ activados proliferan y se diferencian en LTC encargados de destruir las células que lleven microbios refugiados en su citoplasma. Estos microorganismos pueden ser virus que hayan infectado numerosos

tipos celulares, o bacterias ingeridas por los macrófagos pero que han aprendido a escapar de las vesículas fagocíticas y llegar al citoplasma (donde no está al alcance de la maquinaria destructora de los fagocitos, que se encuentra básicamente restringida a las vesículas). Mediante la desaparición de las células infectadas, los LTC eliminan los reservorios de infección.

1.5.5. INMUNIDAD HUMORAL: ACTIVACIÓN DE LOS LINFOCITOS B Y ELIMINACIÓN DE LOS MICROBIOS EXTRACELULARES.

Tras su activación, los linfocitos B proliferan y se diferencian en células que segregan diversas clases de anticuerpos con la misión de cumplir unas funciones distintas. Muchos polisacáridos y lipídicos poseen múltiples determinantes antigénicos idénticos capaces de movilizar las moléculas de numerosos receptores del antígeno en cada linfocito B y poner en marcha su proceso de activación. La respuesta de los linfocitos B a los antígenos proteínicos requiere la llegada de unas señales activadoras (cooperación) procedentes de los linfocitos T CD⁴⁺. Los linfocitos B ingieren los antígenos proteínicos, los degradan y exhiben sus péptidos ligados a las moléculas del CPH para su reconocimiento por parte de los linfocitos T cooperadores, que a continuación activan a los propios linfocitos B.

Una parte de la descendencia que procede de los clones expandidos de linfocitos B se diferencia en células plasmáticas secretoras de anticuerpos. El lugar de unión antigénica de los anticuerpos segregados por cada célula plasmática coincide con los de la superficie celular (receptores de los linfocitos B) que reconocieron al antígeno en un primer momento. Los polisacáridos y los lípidos sobre todo estimulan la secreción de anticuerpos de la clase IgM. Los antígenos proteínicos, en virtud de la acción de los linfocitos T cooperadores, suscitan la producción de diversas clases de anticuerpos. (IgG, IgA, IgE). Esta aparición de anticuerpos diferentes desde el punto de vista funcional, pero todos dotados de la misma especificidad, se denomina cambio de la clase de cadena pesada; y ofrece plasticidad a la respuesta de los anticuerpos, estableciendo las condiciones adecuadas para cumplir numerosas funciones. Los linfocitos T cooperadores también estimulan la producción de los anticuerpos con mayor afinidad por el antígeno. Este proceso, llamado maduración de la afinidad, mejora la calidad de la respuesta inmunitaria humoral.

La respuesta inmunitaria humoral combate a los microorganismos de múltiples formas. La unión de los anticuerpos evita que infecten las células, y así los < neutraliza >. Este es el modo por el que son capaces

de evitar las infecciones. En realidad, los anticuerpos representan el único mecanismo de la inmunidad adaptativa que impide una infección antes de que se establezca; por esta razón, un objetivo clave de cualquier vacunación es el desencadenamiento de su producción dotándolos de gran potencia. Los anticuerpos IgG recubren a los microbios y los marcan antes de su fagocitosis, ya que los fagocitos (neutrófilos y macrófagos) expresan receptores para las colas de las IgG. La IgG y la IgM activan el sistema del complemento por la vía clásica, y sus productos finales favorecen la fagocitosis y la destrucción de los microorganismos. Algunos anticuerpos cumplen unos cometidos especiales en determinados puntos anatómicos. Los epitelios mucosos segregan IgA, que neutraliza los microbios en la luz de las vías respiratorias y del tubo digestivo. La IgG pasa por transporte activo a través de la placenta y protege al recién nacido hasta que el sistema inmunitario está maduro. La mayoría de los anticuerpos tiene una vida media de unas 3 semanas. Sin embargo, algunas células plasmáticas secretoras de anticuerpos emigran hacia la médula ósea y viven durante años, sin dejar de producirlos en concentraciones bajas. Los anticuerpos segregados por estas células plasmáticas longevas proporcionan una protección inmediata cada vez que el microbio vuelva a infectar a la misma persona. Las células de memoria activadas por el microorganismo aportan una protección más eficaz.

1.5.6. MEMORIA INMUNITARIA.

Una respuesta inmunitaria eficaz sirve para eliminar los microbios que la pusieron en marcha. A continuación, viene una fase de contención, en la que desaparecen los clones de linfocitos expandidos y se recupera la homeostasis.

La activación inicial de los linfocitos genera unas células de memoria longeva, capaz de sobrevivir durante años después de la infección. Estas células son más eficaces que los linfocitos vírgenes en el combate contra los microbios, porque, representan una reserva ampliada de linfocitos específicos frente a un antígeno, y responden contra el antígeno con mayor rapidez y eficacia que las células indiferenciadas. Por esta razón, la generación de respuestas de memoria constituye el segundo objetivo más importante de la vacunación.¹

2.- GENERALIDADES DE LA INMUNIDAD INNATA.

2.1. ADAPTATIVA.

El Sistema Inmunitario (SI) puede dividirse funcionalmente en dos niveles: adaptativa e innata (Fig. 1).

La Inmunidad Adaptativa entra en acción cuando falla la inmunidad innata. Elabora una respuesta específica para cada agente infeccioso y guarda memoria de él (puede impedir la reinfección).²

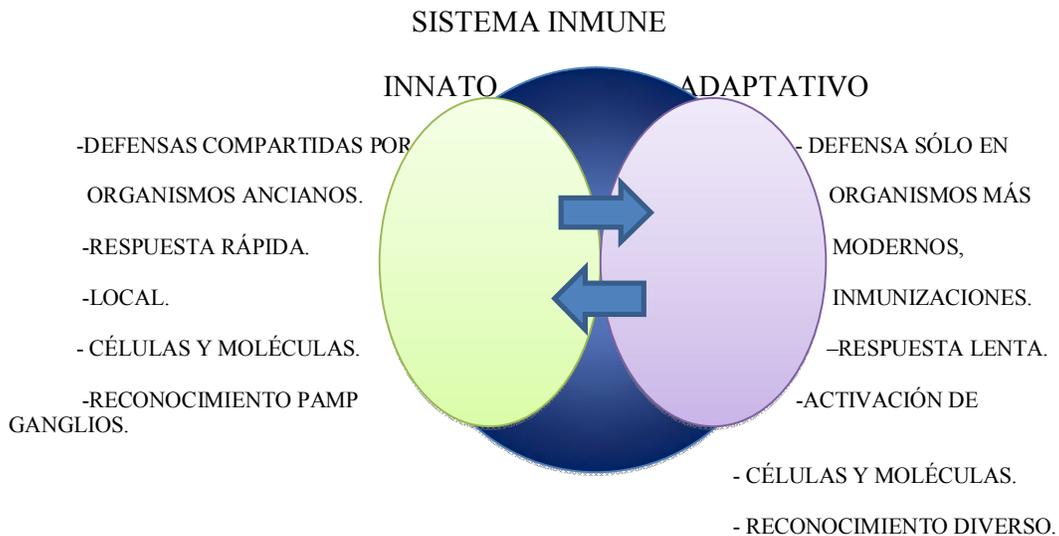


FIG. 1. Esquema que describe al Sistema Inmune Innato y Adaptativo.

Como se describe en el esquema encontramos que la Inmunidad Innata se encarga de ejercer un control permanente (Sistema de Vigilancia) que responde a la agresión provocada por patógenos. Está constituida por mecanismos de defensa celulares y bioquímicos ya instados incluso antes de contraerse la infección y preparados para responder con rapidez una vez producida. Los principales componentes de la inmunidad innata son: 1) Barreras físicas y químicas, como los epitelios y las sustancias antimicrobianas formadas en sus superficie 2) Células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos) y linfocitos citolíticos naturales (NK). 3) Proteínas sanguíneas, como los factores del sistema del complemento y otros mediadores de la inflamación 4) Unas proteínas denominadas citosinas, que regulan y coordinan muchas de las actividades de las células encargadas de la inmunidad innata. Los mecanismos de la inmunidad innata son específicos para aquellas estructuras comunes a los grupos de microbios afines y no deben distinguir la existencia de diferencias entre las sustancias ajenas. Mientras que la Inmunidad Adaptativa es específica de los anticuerpos y requiere el reconocimiento de antígenos que no son propios durante un proceso llamado "Presentación de los Antígenos". Sus características son la especificidad frente a diversas moléculas y la propiedad de "recordar" las exposiciones repetidas al mismo microbio para responder con mayor energía. FUENTE: <http://epidemiologiamolecular.com/wp-content/uploads/2009/02/clip-image0024.gif>

El sistema inmune adaptativo evolucionó en los vertebrados primitivos y permite una respuesta inmunitaria mayor, así como el establecimiento de la denominada "memoria inmunológica", donde cada patógeno es "recordado" por un antígeno característico y propio de ese patógeno en particular²¹. La respuesta inmune adaptativa es específica de los anticuerpos y requiere el reconocimiento de antígenos que no son propios durante un proceso llamado "presentación de los antígenos". La especificidad del antígeno permite la generación de

respuestas que se adaptan a patógenos específicos o a las células infectadas por patógenos. La habilidad de mostrar estas respuestas específicas se mantiene en el organismo gracias a las células de memoria. Si un patógeno infecta a un organismo más de una vez, estas células de memoria desencadenan una respuesta específica para ese patógeno que han reconocido, con el fin de eliminarlo rápidamente.

2.2. LINFOCITOS.

Las células B y las células T son las clases principales de linfocitos y derivan de células madres hematopoyéticas pluripotenciales de la médula ósea²². Las células B, están involucradas en la respuesta inmune humoral, mientras que las células T, están en la respuesta inmunitaria mediada por células.

Las células T reconocen un objetivo no propio, como un patógeno, sólo después de que los antígenos (pequeños fragmentos del patógeno) han sido procesados y presentados en combinación con un receptor propio, una molécula del llamado complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). Hay dos subtipos principales de células T: la célula T asesina y la célula T colaboradora o ayudante. Las células T asesinas solo reconocen antígenos acoplados a moléculas del CMH de clase I, mientras que las células T colaboradoras sólo reconocen antígenos acoplados a moléculas del CMH de clase II. Un tercer subtipo menor lo forman las células T γ δ (células T gamma/delta), que reconocen antígenos intactos que no están acoplados a receptores CMH.²³ (Fig. 2)

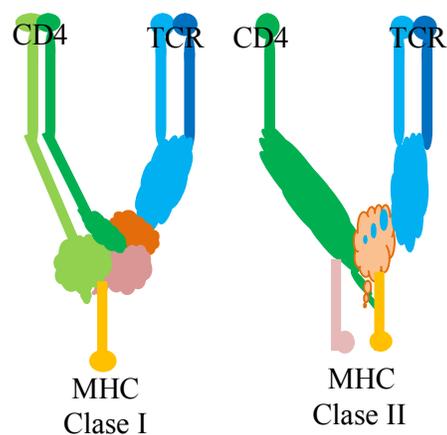


FIGURA 2. Estructura de los receptores CD4 y TCR.

Las células T reconocen un objetivo no propio, después de que los antígenos han sido procesados y presentados en combinación con un receptor propio, una molécula del llamado complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). Hay dos subtipos principales de células T: la célula T asesina y la célula T colaboradora o ayudante. Las células T asesinas solo reconocen antígenos acoplados a moléculas del CMH de clase I, mientras que las células T colaboradoras sólo reconocen antígenos acoplados a moléculas del CMH de clase II. Fuente: http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:TCR-MHC_bindings.png

El receptor específico de antígeno de las células B es un molécula de anticuerpo en la superficie de la célula B, y reconoce patógenos completos sin la necesidad de que los antígenos sean procesados previamente. Cada linaje de células B expresa en su superficie un anticuerpo diferente, de forma que el conjunto completo de receptores de antígenos de las células B de un organismo, representa todos los anticuerpos que ese organismo es capaz de fabricar. ^{22'3}

2.3. CÉLULAS T ASESINAS.

Denominadas linfocitos T citóxicos, son un subgrupo de células T que matan células infectadas con virus (y otros patógenos), o que estén dañadas o enfermas por otras causas²⁴.

Éstas son activadas cuando su receptor de células T (RCT) se liga a su antígeno específico en un complejo con el receptor del CMH de clase I de otra célula. El reconocimiento de este complejo CMH-antígeno se ve favorecido por un co-receptor en la célula T, llamado CD8. Así, la célula T viaja a través del organismo en busca de células donde los receptores del CMH de clase I lleven este antígeno.

Cuando una célula T activada toma contacto con tales células, libera citotoxinas que forman poros en la membrana plasmática de la célula diana o receptora, permitiendo que iones, agua y toxinas entren en ella. Esto provoca el estallido de la célula diana o que experimente apoptosis²⁵. La muerte de células huésped inducida por las células T asesinas tiene una gran importancia para evitar la replicación de los virus. La activación de las células T tiene unos controles muy estrictos y por lo general requiere una señal muy fuerte de activación por parte del complejo CMH/antígeno, o señales de activación adicionales proporcionadas por las células T colaboradoras. ²⁵(Fig. 3).

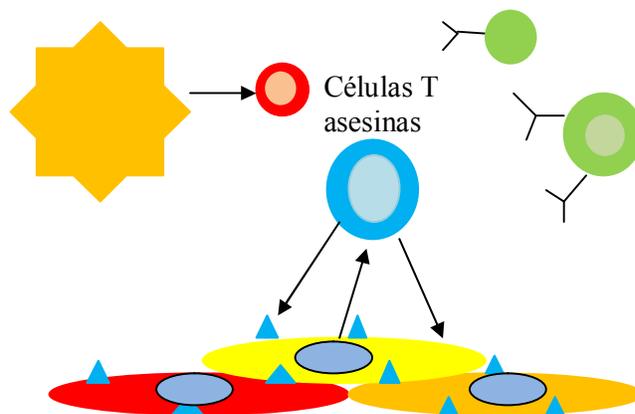


Fig. 3. Esquema que describe a las células T asesinas.

Las células T asesinas comienzan a provocar hoyos en las células anfitrionas, es decir, que han sido infectadas por virus.
Fuente: <http://www.inmunoterapia.cl/inmunoterapia.htm>

2.4. LINFOCITOS T COLABORADORES.

Regulan tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa, y contribuyen a determinar qué tipo de respuesta inmunitaria ofrecerá el cuerpo ante un patógeno particular^{26,27}. Controlan la respuesta inmunitaria dirigiendo otras células para que lleven a cabo estas tareas.

Expresan receptores de los linfocitos T que reconocen antígenos unidos a moléculas de MHC de clase II. El complejo MHC-antígeno también es reconocido por el correceptor CD4 del linfocito T colaborador, que recluta moléculas dentro del linfocito T (como la Lck) que son responsables de la activación de dicho linfocito.³

Los linfocitos T colaboradores tienen una asociación más débil con el complejo MHC-antígeno que la de los linfocitos T citotóxicos, lo que significa que muchos receptores (unos 200 a 300) del linfocito T colaborador deben quedar unidos a un MHC-antígeno para activar el linfocito, mientras que los linfocitos T citotóxicos pueden ser activados por el acoplamiento de una única molécula de MHC-antígeno. La activación de los colaboradores también requiere una unión de duración superior con una célula presentadora de antígeno²⁸. La activación de un linfocito T colaborador en reposo hace que libere citoquinas que influyen en la actividad de muchos tipos de células. Las señales de citoquinas producidas por los linfocitos T colaboradores mejoran la función microbicida de los macrófagos y la actividad de los linfocitos T citotóxicos²⁹. Además, la activación de los linfocitos T colaboradores provoca un aumento de las moléculas que se expresan en la superficie del linfocito T, como el ligando CD40 (también llamado CD154), que envía señales estimulantes adicionales requeridas generalmente para activar los linfocitos B, productores de anticuerpos^{30,31}. (Fig. 4)

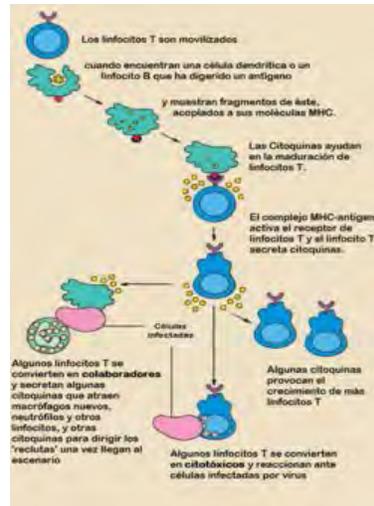


FIG. 4. Esquema que representa a los linfocitos T.

La activación de linfocitos T tiene dos consecuencias generales: En el ganglio linfático, la activación de los linfocitos T conduce a la activación de células efectoras inmunes. En los tejidos periféricos, la activación de linfocitos T conduce a la erradicación del microorganismo del foco infeccioso. Una de las primeras respuestas detectables de los linfocitos T a la presentación y reconocimiento antigénico por células presentadoras de antígeno (CPA) es la secreción de citocinas, en especial la Interleucina-2 (IL-2), la cual actúa como factor de crecimiento sobre el mismo linfocito T que lo secreta, por tener ésta receptores para la IL-2. Bajo el efecto de la IL-2, la célula T sufre una proliferación numérica exponencial, denominada expansión clonal, la cual es el fundamento de la memoria inmunitaria. La expansión clonal es seguida por una diferenciación celular, produciendo linfocitos CD4 -encargados de la activación de macrófagos, linfocitos B y otras células- y linfocitos CD8 las cuales eliminan ciertas «células diana» infectadas y también activan macrófagos en los tejidos afectados. Fuente: http://es.wikipedia.org/wiki/Linfocito_T

2.5. INNATA.

Es la primera línea de defensa frente a agentes infecciosos; la mayoría de los agentes patógenos pueden controlarse antes de que se produzca una infección. Involucra células (ej: fagocitos) y moléculas solubles (ej: opsoninas) innatos o inducidos tempranamente en la infección.

Ejerce un control permanente -sistema de vigilancia- que responde en forma inmediata a la agresión provocada por patógenos.

Provee un conjunto de señales indispensables para la activación de la inmunidad adaptativa. (Tabla 1).²

TABLA 1.

Componentes	Inmunidad innata	Inmunidad adaptativa
Factores solubles	Lisozima, complemento, proteínas de fase aguda, moco, espermina del semen, acidosis del estómago, gérmenes de la vagina, piel e intestino	Anticuerpos
Células	Fagocitos mononucleares, neutrófilos, NK	Linfocitos T y B
Barreras físico-químicas	Piel y mucosas (glándulas sebáceas), cilios de la tráquea	Sistema inmunitario cutáneo y mucosal
Citocinas	IFN α y β , TNF, IL-1, IL-6	IFN- γ , IL-2, IL-3,.....
Características	Resistencia no mejorada por la reinfección	Resistencia mejorada por la reinfección

Las células del sistema innato reconocen, y responden a patógenos de forma genérica y, a diferencia del sistema inmunitario adaptativo, no confiere inmunidad a largo plazo o protectora al huésped. El sistema inmunitario innato proporciona defensa inmediata contra la infección, y se encuentra tanto en animales como en vegetales.

La respuesta inmune innata es la primera barrera defensiva del huésped, ya que cuenta con mecanismos efectores que impiden el establecimiento de la infección. Durante la respuesta inflamatoria, el reconocimiento inicial de los agentes infecciosos, por parte de las células polimorfonucleares (PMN), como neutrófilos, macrófagos y natural killer (NK), se efectúa a través de receptores de reconocimiento de patógenos (pattern recognition receptors, PRR), que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (pathogen-associated molecular pattern, PAMP). Los PRRs son específicos para cada agente invasor y entre éstos, la familia de los TLRs, juega un rol importante en la activación de la inmunidad innata³¹.

Los TLRs se expresan en diferentes células del sistema inmune, como macrófagos, células dendríticas, eosinófilos, monocitos y neutrófilos, como también en células endoteliales y epiteliales³².

Específicamente, se encuentran en las células epiteliales de la interfase entre el ambiente externo y la superficie de la mucosa respiratoria,

digestiva y urogenital, permitiendo que los mecanismos inmunes defensivos primarios sean iniciados localmente, mientras que inician la comunicación de la presencia de patógenos al sistema inmune adaptativo³³. Es importante reconocer que estas superficies mucosas están colonizadas normalmente con microorganismos, y que el encuentro con los potenciales patógenos es frecuente.

Los TLRs, además, tienen un importante rol en la respuesta innata a agentes no infecciosos inmunoestimuladores presentes en el medio ambiente. En la cavidad nasal, donde es frecuente la interacción microbiana, se ha observado una regulación negativa de la activación de TLRs y desarrollo de tolerancia a la flora normal de la vía aérea superior. Se ha establecido que las células epiteliales desarrollan tolerancia al lipopolisacárido (LPS), componente de la membrana externa de bacterias Gram negativas, después de múltiples estímulos, y que se produce inhibición de TLRs. Es posible que los TLRs puedan discriminar diferencias estructurales en los ligandos patógenos, permitiendo así la diferenciación entre los microorganismos comensales y patogénicos.^{34,20}

2.6. CÉLULAS DE LA RESPUESTA INMUNITARIA INNATA.

2.6.1. LEUCOCITOS.

Son capaces de moverse libremente e interactuar y capturar restos celulares, partículas extrañas, o de invadir microorganismos. La mayoría de los leucocitos inmunitarios innatos no se pueden dividir o reproducir por sí mismos, pero son los productos de las células madres pluripotenciales presentes en la médula ósea³⁵. Los leucocitos de la respuesta innata incluyen: Células asesinas naturales (Células NK), mastocitos, eosinófilos, basófilos; y las células fagocíticas (fagocitos) incluyen a los macrófagos, los neutrófilos y las células dendríticas, y funcionan dentro del sistema inmunitario con la identificación y la eliminación de los patógenos que podrían causar infección³⁶.(Fig. 5).

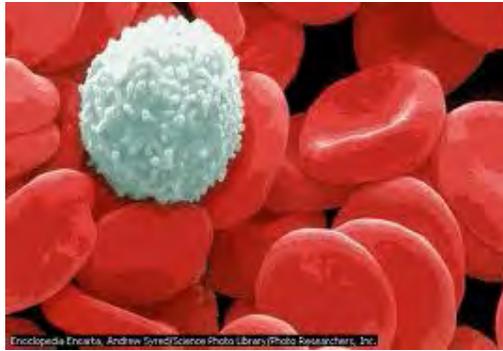


Fig. 5. Esquema que representa un leucocito o glóbulo blanco.

Se mueven libremente, capturan restos celulares, partículas extrañas e invaden microorganismos

Fuente: <http://www.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www2.eps-vila-franca-naves.rcts.pt/cn/cn6/quizes%2520s%2520circulatorio/leucocito.png&imgrefurl=http://www2.eps-vila-franc>

2.6.2. FAGOCITOS.

Estas son células inmunitarias que devoran, patógenos o partículas. Para fagocitar un patógeno o partícula, un fagocito extiende porciones de su membrana celular, extendiendo la membrana alrededor del objeto a fagocitar (disponiendo la partícula dentro de la célula). Una vez dentro de la célula, el patógeno invasor es contenido dentro de un endosoma que se fusiona con un lisosoma³⁶. El lisosoma contiene enzimas y ácidos que matan y digieren la partícula u organismo. Los fagocitos generalmente patrullan el cuerpo en busca de patógenos, pero también son capaces de reaccionar a un grupo de señales moleculares altamente especializadas producidas por otras células, llamadas citoquinas. (Fig. 6).

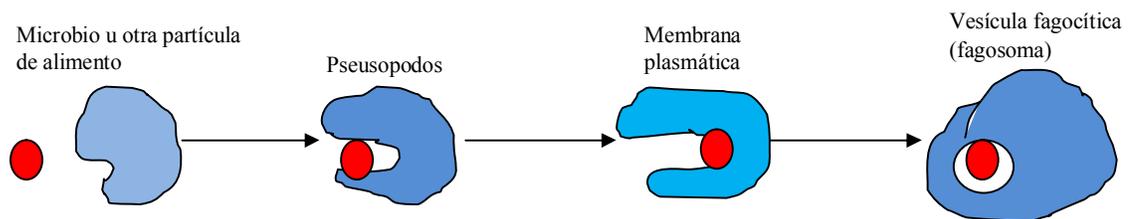


Fig. 6. Esquema que representa la fagocitosis.

Es un tipo de **endocitosis** por el cual algunas **células** rodean con su **membrana citoplasmática** a una sustancia extracelular (un sólido) y la introducen al interior celular. Esto se produce gracias a la emisión de **pseudópodos** alrededor de la partícula o **microorganismo** hasta englobarla completamente y formar alrededor de él una **vacuola**, la cual fusionan posteriormente con **lisosomas** para degradar la sustancia fagocitada, la cual recibirá el nombre de fagosoma

Fuente: <http://pedro1999.blogspot.com/2009/09/fagocitosis.html>

2.6.3. MACRÓFAGOS.

Son leucocitos fagocíticos grandes, que son capaces de moverse al exterior del sistema vascular al atravesar la membrana celular de los vasos capilares y entrando en áreas intercelulares en persecución de los patógenos invasores. Los macrófagos órgano-específicos están diferenciados a partir de las células fagocíticas presentes en la sangre llamadas monocitos. Los macrófagos son los fagocitos más eficientes, y pueden fagocitar números substanciales de bacterias u otras células o microbios³⁶. La unión de moléculas bacteriales a los receptores sobre la superficie de un macrófago desencadena la ingestión y destrucción de las bacterias a través de la generación de una "brecha respiratoria", causando la liberación de especies reactivas del oxígeno. Los patógenos también estimulan al macrófago a la producción de quimioquinas, que atraen otras células al sitio de la infección³⁶.

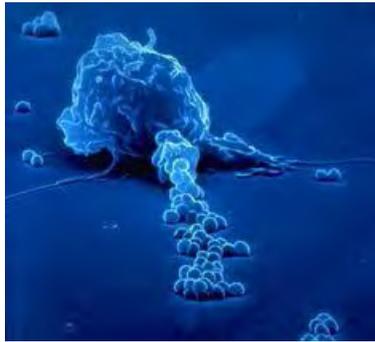


Fig. 7. Esquema de un macrófago.

Estas células, son los grandes comedores, son menos rápidos para responder a los invasores que los granulocitos pero son más grandes, viven más tiempo y tienen otras propiedades como veremos más adelante. Los macrófagos juegan un papel importante en alertar al resto del sistema inmune. Los macrófagos son en principio los monocitos que circulan en la sangre pero cuando dejan la circulación y atraviesan los tejidos se convierten en macrófagos.

Fuente: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/contratapa/aprendiendo/capitulo8.htm>

2.6.4. NEUTRÓFILOS.

Son conocidos como granulocitos debido a la presencia de gránulos en su citoplasma, o como células polimorfonucleares (PMNs) debido a su distintivos núcleos lobulados. Los gránulos del neutrófilo contienen una variedad de sustancias tóxicas que matan o inhiben el crecimiento de bacterias y hongos. Los neutrófilos atacan a los patógenos mediante la activación de una "brecha respiratoria". Los productos principales

de la brecha respiratoria del neutrófilo son fuertes agentes oxidantes incluyendo el peróxido de hidrógeno, los radicales libres de oxígeno y el hipoclorito. Los Neutrófilos son los tipos celulares fagocíticos más abundantes, normalmente representan el 50 a 60% del total de leucocitos circulantes, y son usualmente las primeras células en llegar al sitio de una infección³⁷. La médula ósea de un adulto normal saludable produce más de 100 billones de neutrófilos por día, y más de 10 veces por día que muchos en una inflamación aguda³⁷ (Fig. 8).

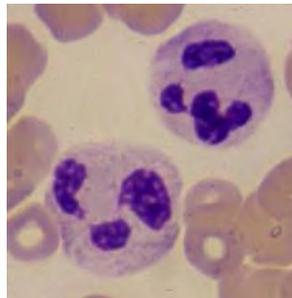


Fig. 8. Representación de un neutrófilo.

Presenta gránulos en su citoplasma, con sustancias tóxicas que inhiben el crecimiento de las bacterias.

Fuente: http://www.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.mdconsult.com/das/patient/body/0/0/10041/9355_es.jpg&imgrefurl=http://www.mdconsult.com/das/patient/view/0/1

2.6.5. CÉLULAS DENDRÍTICAS.

Son células fagocíticas presentes en tejidos que están en contacto con el medio externo, principalmente la piel (donde dichas células toman el nombre de Células de Langerhans), y el revestimiento mucoso interno de la nariz, pulmones, estómago e intestino³⁵. Las células dendríticas son muy importantes en la presentación de antígenos, y sirven como enlace entre los sistemas inmunitarios innato y adaptativo. (Fig. 9).

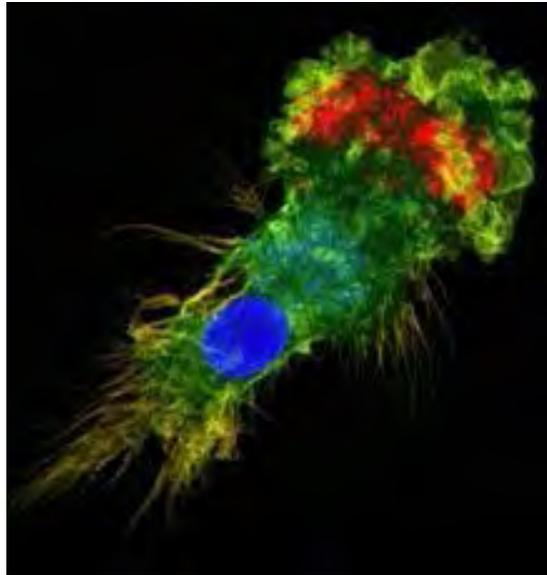


FIG. 9. Esquema de las células dendríticas y su acción.

1 Un fagocito (dendrocito) se come a una bacteria. Las partes de la bacteria (antígenos) migran hacia la superficie del fagocito.- El fagocito presenta al antígeno con el linfocito T ayudante - El linfocito T se convierte en una célula activada.
 Fuente: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/contratapa/aprendiendo/capitulo8.htm>

2.6.6. BASÓFILOS Y EOSINÓFILOS.

Cuando se activan al encuentro con un patógeno, los basófilos liberan histamina siendo importantes en la defensa contra parásitos, y juegan un papel importante en las reacciones alérgicas³⁶. Desde su activación, los eosinófilos secretan un rango de proteínas altamente tóxicas y radicales libres que son altamente efectivos en la muerte de bacterias y de parásitos, pero también son responsables del daño tisular que ocurre durante las reacciones alérgicas. La activación y la liberación de toxinas por los eosinófilos son por tanto minuciosamente reguladas para prevenir cualquier daño por la destrucción inadecuada de tejido³⁷¹⁴. (Fig. 10).

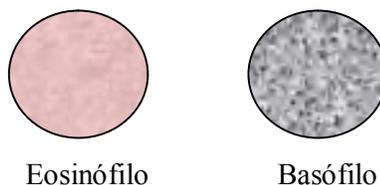


Fig. 10. Representación de un eosinófilo y un basófilo.

Los eosinófilos secretan proteínas tóxicas y radicales libres que provocan la muerte de bacterias, provocando daño tisular. Los basófilos secretan histamina como defensa para los parásitos.

Fuente: http://www.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.mdconsult.com/das/patient/body/0/0/10041/9355_es.jpg&imgrefurl=http://www.mdconsult.com/das/patient/view/0

3. PATRONES MOLECULARES ASOCIADOS A PATÓGENOS.

Las células del sistema inmune innato reconocen un patrón molecular común y constante de la superficie de los microorganismos denominado patrón molecular asociado a patógenos (PMAP), a través de los receptores conocidos como receptores reconocedores de patrones (PRR).

Los PRR se expresan fundamentalmente en la superficie de las células que primero entran en contacto con el patógeno durante la infección (células de la superficie epitelial) y en células presentadoras de antígeno (células dendríticas y monocitos/macrófagos; también se encuentran presentes en compartimentos intracelulares, en el torrente circulatorio y en fluidos tisulares).

Los principales PMAPs que actúan como dianas para la activación del sistema inmune innato se encuentran el lipopolisacárido, ácido teicoico, secuencias de DNA CpG no metiladas, manosa y RNA bicatenario característico de virus.

Estos presentan una serie de propiedades comunes:

- Son característicos de los microorganismos y no se encuentran presentes en las células del huésped, característica que permite al sistema inmune innato distinguir entre antígenos propios y extraños.
- Con un número limitado de PRR se detecte la presencia de cualquier patógeno.
- Son esenciales para la supervivencia o patogenicidad del patógeno por lo que sus mutaciones son letales para el microorganismo y por tanto permanecen invariables pudiendo ser reconocidos por los PRR.

Hay distintos tipos de proteínas que presentan características de PRR capaces de reconocer los patrones moleculares asociados a patógenos, entre los cuales, hay que destacar los "receptores similares a Toll" (TLR). (Fig. 11).

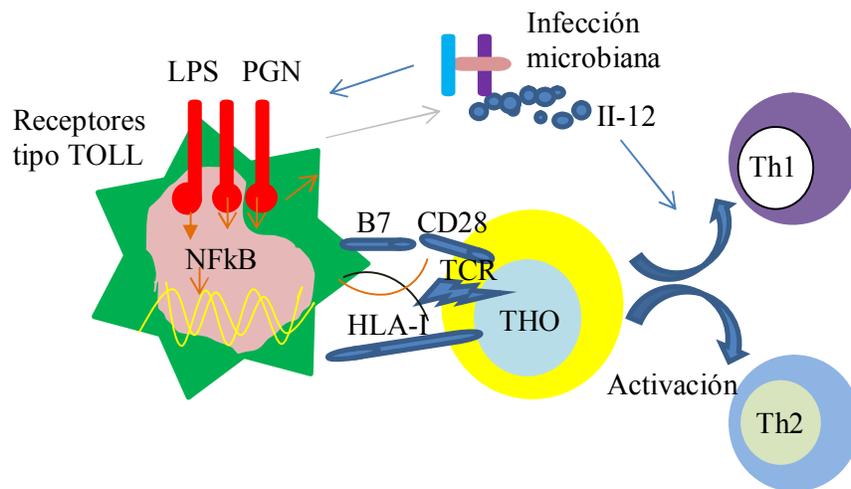


FIGURA 11. Mecanismo de Interacción entre los receptores TLR y el sistema inmune.

La activación de los Receptores Toll induce una activación de NF-KB que actuando sobre el ADN induce la formación y expresión de nuevas moléculas B7 y activación de Th0 mediante la liberación de IL-12.

Fuente: http://inmunologiaenlinea.es/index.php?option=com_content&view=article&id=95:isis-por-linfocitos-y-nk&catid=46:sistema-efector&Itemid=

La activación de los PRR a través de los PAMPs conlleva una doble función:

- 1.- Activar distintos procesos característicos del sistema inmune innato, como la fagocitosis, opsonización, producción de mediadores de la inflamación, con el fin de impedir la diseminación del patógeno antes de que se desarrolle la inmunidad adquirida.
- 2.- Establecer una conexión entre la inmunidad innata y adquirida⁵

Los macrófagos proceden al reconocimiento de las estructuras, microorganismo o células a destruir mediante una gran variabilidad de receptores. Entre estos receptores destacan ciertas moléculas que poseen capacidad de identificar patrones moleculares conservados presentes en los microorganismos patógenos pero no en los tejidos propios, a las que se denominan **Patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs)**.

Los macrófagos exhiben los mismos receptores, los cuales median el reconocimiento de unas pocas estructuras moleculares, PAMPs, conservadas en grupos muy extensos de microorganismos.

Esto permite a los macrófagos, al tener la posibilidad de reconocer de manera universal a los microorganismos, poner en marcha un sistema muy eficiente y rápido de defensa.⁶

El sistema inmune innato es capaz de detectar estructuras moleculares que son únicas en los microorganismos³⁸ y son llamadas patrones de reconocimiento.

Los receptores presentes en el hospedero que reconocen estas estructuras se denominan receptores de reconocimiento de patrones (PRR) y se asocian con un elevado número de moléculas que poseen motivos o patrones estructurales comunes. Las moléculas blanco de estos receptores se denominan patrones asociados a patógenos (PAMPs), aunque están presentes tanto en microorganismos patógenos como no-patógenos.

Existen numerosas clases funcionales de PRR y los que están mejor caracterizados son los llamados receptores similares a Toll (TLR). Estos receptores permiten a las células portadoras discriminar entre lo propio y lo extraño según el tipo de señal que se transmite al interior de la célula³⁹ y reconocen motivos moleculares conservados en microorganismos pero no en vertebrados. La estimulación de los TLR proporciona una respuesta defensiva mediada por péptidos antimicrobianos y citocinas.¹⁸

Los receptores Toll-Like (TLR) mediante el reconocimiento de componentes microbianos de células dendríticas (DCs), la más potente y profesional célula presentadora de antígeno (APCs), en un evento central de la activación de la respuesta inmunitaria innata y adaptativa⁴⁰.

Los TLRs reconocen diferentes patógenos asociados a patrones moleculares (PAMPs), incluyendo estructuras superficiales y ácidos nucleicos, con muchos microorganismos infecciosos, y desencadenar cascadas de señalamiento que conducen a la activación celular y producción de mediadores inmunes.¹³

4.- RECEPTORES DE LA INMUNIDAD INNATA.

En vertebrados, se encuentran las células de la inmunidad innata; de éstas, los linfocitos asesinos naturales (NK por sus siglas en inglés de Natural Killer) son las células centrales de los mecanismos innatos de defensa.

Las células NK circulan en un estado de "listas para actuar", lo cual las capacita para entrar y defender un tejido, tan pronto como éste llegara a estar dañado o infectado, produciendo citocinas, lo cual le permite activar otros mecanismos de la inmunidad, tanto innata como adquirida, si se requiriera, y causando toxicidad. Ambos mecanismos efectores se activan por la interacción de sus receptores de membrana. Los linfocitos NK poseen diversos receptores en su membrana plasmática, los cuales regulan su función efectora dependiendo de las señales (ligandos) positivas y negativas que activan o inhiben. Por su función se dividen en: activadores, encargados de llevar a cabo la actividad citotóxica e inhibidores, encargados del reconocimiento de moléculas del complejo principal de histocompatibilidad clase I (MHC I).

Las NK ensamblan combinaciones diferentes de receptores a partir de una selección de receptores activadores y supresores, los cuales están expresados en su membrana plasmática^{41'42}.

4.1. RECEPTORES ACTIVADORES.

Los linfocitos NK destruyen únicamente células "blanco" que carecen de MHC I apropiado⁴³. Para la activación de linfocitos NK es necesario el acoplamiento de sus receptores activadores con el ligando respectivo en la célula "blanco"⁴⁴.

Esta interacción específica proporciona el estímulo requerido para la producción de sus citocinas y su actividad citotóxica. El proceso es regulado por receptores inhibidores y citocinas que aumentan, limitan o terminan la respuesta⁴⁵. Los receptores activadores contienen residuos cargados en sus dominios transmembranales, que les permiten interactuar con moléculas de señalamiento intracelular, como son: FcεRg, CD3z y DAP12.^{46'47}

4.2. CD16.

El CD16 es un receptor de membrana plasmática que junto con CD56 sirven para diferenciarlos de los linfocitos T, los cuales son CD16-CD56⁵⁰. Pertenece a la familia del super-gen de la Ig, es un receptor de baja afinidad y es también conocido como FcγRIII o FcγRIIIa (receptor tipo III de la Fc de la cadena g de la IgG)^{45'52}. Este polipéptido glicosilado contiene 21 aminoácidos en su tallo citoplásmico. En el humano esta glicoproteína de superficie está codificada en el cromosoma humano 1^{52'54}.

El CD16 permite el mecanismo de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC) mediante el cual destruye a la célula "blanco" cubierta de IgG^{55,50}. Después de ligar a su "blanco", el CD16 inicia la transducción de señal, ocurriendo un incremento en los niveles de Ca²⁺ intracelular y una cascada de eventos similares a la activación de linfocitos T, que resulta en la secreción de factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), perforinas, granzimas y granulolisinas, responsables de su capacidad citolítica.⁵⁵(Fig. 12).

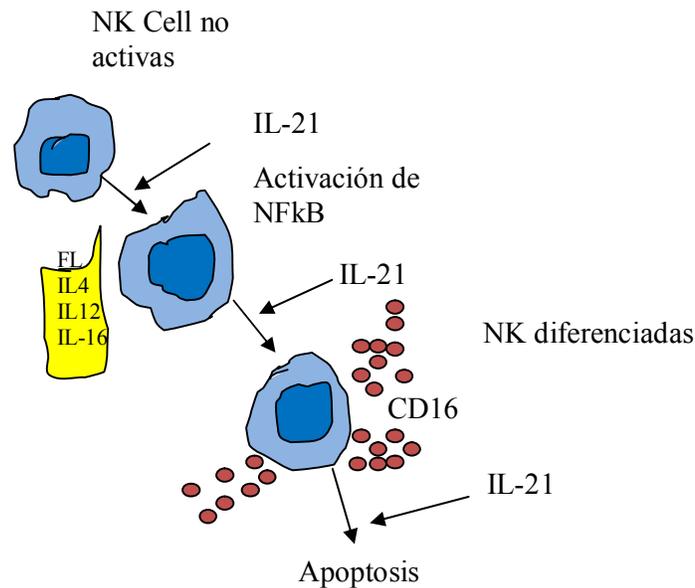


Fig. 12. Acción del receptor CD16.

Permite el mecanismo de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC) mediante el cual destruye a la célula "blanco" cubierta de IgG. Después de asociarse a su "blanco", el CD16 inicia la transducción de señal, ocurriendo un incremento en los niveles de Ca²⁺ intracelular y una cascada de eventos similares a la activación de linfocitos T, que resulta en la secreción de factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), perforinas, granzimas y granulolisinas, responsables de su capacidad citolítica.

Fuente: http://www.rndsystems.com/cb_detail_objectname_WI03_IL21.aspx

4.3. CD2.

Conocida como LFA-2 o Ly-37, es una glicoproteína de membrana de la familia del supergen de la Ig expresado en los linfocitos NK y T. El ligando específico es otra glicoproteína de membrana, el CD58.

4.4. CD28.

La glicoproteína CD28 es un homodímero unido por enlaces disulfuro que pertenece a la familia del supergen de la Ig y se une a los ligandos CD80 y CD86. Su función, como receptor de señalización intracelular

para proliferación, producción de IFN γ y destrucción de células tumorales, ha sido demostrada en diversos sistemas, sugiriendo un papel importante en la función efectora de las células NK para controlar no sólo infecciones sino también crecimiento tumoral^{57,58}.

4.5. CD 161 (NKR-P1).

Tres genes que codifican para esta proteína han sido identificados en el ratón y la rata, y son conocidos como NKR-P1A, NKR-P1B, NKR-P1C. Sólo uno de estos genes ha sido identificado en linfocitos NK humanos⁴⁵. Pertenecen a la superfamilia de las lectinas tipo C que son expresadas como homodímeros, de aproximadamente 80 kDa, unidos por enlaces disulfuro en la superficie de linfocitos NK y subclases de LT⁵⁹. Son expresados en el cromosoma 6 del ratón, en el 12 del humano y en el 4 de la rata, en la región designada como "gen del complejo NK". Los NKR-P1C o CD161c también son conocidos como NK1.1 o Ly-55⁵³.

4.6. OTROS RECEPTORES ACTIVADORES.

Otros receptores de los linfocitos NK, colectivamente llamados receptores citotóxicos naturales, son los NKp46, NKp44 y NKp30. Este último receptor es conocido también como 1C7 y es codificado por el gen del mismo nombre localizado dentro de la región del MHC clase III^{46,56}. NKp46 y NKp30 son únicamente expresados por linfocitos NK, pero sus ligandos no han sido aún identificados. El receptor 2B (CD244 expresado en los linfocitos NK de ratón y humano) contribuye a la lisis de células blanco CD48⁺^{50,60}. El receptor DNAM-1 posee 2 dominios Ig. Su expresión en NK y TC en humanos está relacionado con la citotoxicidad y producción de citocinas después de la interacción con ciertos tumores⁴⁰.

4.7. RECEPTORES INHIBIDORES.

Los linfocitos NK pueden detectar en su célula "blanco" moléculas de MHC I anormales e iniciar su eliminación^{53,61,62}. Las células "blanco" susceptibles de ser destruidas por las NK están caracterizadas por la expresión defectuosa de uno o más alelos de MHC I⁵³. La pérdida de la molécula MHC I ocurre frecuentemente en malignidades o en la infección por virus^{50,63}.

Debido a esto, líneas tumorales como la K562 (derivadas de pacientes con leucemia mielocítica crónica), Molt 4 (leucemia linfoblástica

aguda) o Daudi (linfoma de Burkitt), son usadas comúnmente como "blanco" para ensayos con células NK, ya que no expresan MHC I⁵⁴.

Algunas células que carecen de MHC I son resistentes a la destrucción por linfocitos NK. Esto podría ser debido a la falta de ligandos apropiados para la unión de receptores activadores y el inicio de la transducción de señal en las NK. (Tabla 2)⁵².

Tabla 2. Receptores activadores de linfocitos NK.

RECEPTOR	LIGANDO	PM (kDa)
CD69 85		
CD38	CD31	42
CD44 85-95	Componentes de la matriz extracelular y laminina	
CD71 CD137	Transferrina cuando están activados 180-190 Fibronectina, laminina y colágena IV cuando	
están activados	30	
CD48	CD2 y CD244	45
CD47	CD1F2a	50

Un receptor inhibitor de NK de cualquier tipo no interactúa con todos los Ag MHC I, por lo que cada receptor generalmente identifica un grupo de antígenos MHC I que comparte una región antigénica⁵⁰. Pertenecen a la familia del super gen de Ig (tipo I) y de las lectinas tipo C (tipo II).

Los más importantes conocidos hasta ahora son: receptores Ly49, KIR, CD94/NKG2 y KLRE1 los cuales después de la unión de su ligando, los "motifs" citoplasmáticos llamados "ITIM's" son fosforilados, resultando en el reclutamiento y activación de fosfatasas que afectan el señalamiento intracelular mediante la activación de sus receptores^{47,53,61,64}.

4.8. KIR.

Originalmente definidos como moléculas p50 y p70, estos receptores fueron nombrados así (del inglés killer immunoglobulin-like receptor). Los KIR juegan un papel crítico en el reconocimiento de las moléculas de MHC I propias para proteger a las células normales del huésped de la lisis por NK^{42,65}.

Los KIR son glicoproteínas pertenecientes a la superfamilia de las Ig y al igual que MHC I muestran un alto polimorfismo genético^{50,66,67}.

Están codificados en el cromosoma humano 19 y el número preciso de los *loci* se desconoce, pero se estima que son aproximadamente 10 los miembros de la familia KIR aunque solo dos de ellos han sido plenamente identificados⁶³. La familia KIR2D que posee dos dominios Ig y la KIRD3 de tres dominios Ig^{44,68}.

Los sufijos 2D y 3D subdividen las moléculas en dos (p58/p50) o tres (p70/p40) dominios respectivamente. Además, son clasificados de acuerdo al tamaño de sus dominios citoplásmicos cortos o S (que generalmente inhiben) y largos o L (que generalmente activan).

Así, hay KIR con dominios citoplásmicos largos como KIR2DL (también llamado p58) y KIR3DL (también llamado p70) que contiene dos secuencias ITIM y receptores KIR con dominios cortos como KIR2DS (también llamado p50) y KIR3DS, los cuales carecen de secuencias ITIM y poseen una carga de aminoácidos que los hace mejores para activar que para inhibir^{42,64}.

Tanto KIR2D y KIR3D son expresados como monómeros a excepción de la glucoproteína KIR3DL-NKAT4 que puede expresarse como monómero u homodímero unido por enlaces disulfuro⁶⁸. Los receptores KIR2DL y KIR2DS están asociados con el reconocimiento de alelos HLA-C⁶⁹, mientras que KIR3DL reconoce HLA-A y B^{66,70,71}. Los LNK humanos expresan dos o más KIR y sus homólogos han sido identificados en primates^{45,63}.

La actividad inhibitoria reside en los ITIM, el cual consiste en una secuencia consenso de I/VxYxxL (donde x en la secuencia denota cualquier aminoácido), y que al contacto con la molécula de MHC induce la fosforilación de tirosina y el subsecuente reclutamiento de la proteína tirosina-fosfatasa (SHP-I)^{61,72,73}.

4.9. Ly49 (KLR).

El receptor Ly49 (ahora llamado Ly49A), fue el primer receptor de LNK definido a nivel molecular y es responsable del reconocimiento del MHC I en el ratón. Los receptores murinos Ly49 son glicoproteínas de membrana tipo II, de la superfamilia de la lectina tipo C, codificados por al menos 9 genes íntimamente relacionados que se encuentran en el cromosoma 6 de ratón, denominado "gen del complejo NK". Son expresados en la superficie de linfocito NK y LT como homodímeros^{74,42,76,77}. El receptor Ly49 interacciona con H-2Dd uniendo los dominios a1 y a2 y requiere la asociación de microglobulina-b2. La

composición de los péptidos H-2-Dd no parece afectar el reconocimiento Ly49A.

Esto de acuerdo a investigaciones que demostraron que Ly49A interactúa con moléculas H-2Dd cuando se substituyen los aminoácidos del H-2Dd (que se unen a Ly49) con alanina. Lo que sugiere que Ly49A reconoce específicamente a H2-Dd, independientemente de la composición de sus péptidos. Algunos receptores Ly49, como Ly49A, Ly49C, Ly49G2 y Ly49I, contienen sitios inhibidores ITIM, que inhiben la actividad citolítica de los LNK contra la célula "blanco"⁷⁸. Así se ha visto que Ly49A es específico para reconocer moléculas H-2D^d y D^{k77}, mientras que Ly49C es un receptor más amplio para MHC I, incluyendo haplotipos d, b, k y s. Ly49G es un receptor específico para C^d y L^{d76}⁷⁹. En contraste, Ly49D carece de sitios ITIM por lo que se considera que es más bien un receptor activador de la citotoxicidad, por ejemplo; destruye células CB FcR⁺⁸⁰⁷⁸⁸¹ y está asociado a DAP12.⁶⁸⁷

4.10. ACCIÓN DE LAS CÉLULAS ASESINAS (NK)

Estas células actúan en etapas tempranas del proceso infeccioso causado por patógenos intracelulares como virus del herpes, *Listeria monocytogenes*, etc., y ejercen su acción citotóxica o destructiva sobre células infectadas y tumorales, que incluso se incrementa entre 20 a 100 veces por las influencias de los IFNs alfa y beta, así como de la IL-12, la cual sinergia su efecto con el IFN-alfa y obliga a la célula NK a producir gran cantidad de IFN-gamma; fenómeno crucial para controlar la infección antes de que la célula T haya sido activada.⁴⁸⁴⁹⁸

5. RECEPTORES TIPO TOLL.

5.1. CONTEXTO HISTÓRIO.

Los receptores tipo Toll (*Toll-like receptor* TLRs) son una familia de proteínas transmembranales de tipo I que forman parte del sistema inmunitario innato. En los vertebrados también posibilitan la adaptación del sistema inmune. Descubiertos inicialmente de la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) son los responsables del reconocimiento de varias vías de patrones de reconocimiento de patógenos (PAMPs *pathogen-associated molecular patterns*) expresados por un amplio espectro de agentes infecciosos. Monocitos/macrófagos y neutrófilos fagocitan patógenos microbianos y estimulan la respuesta de citocinas dando como resultado el

desarrollo de la inmunidad innata o natural, la respuesta inflamatoria y median la efectiva inmunidad adaptativa. También se encuentran en los eosinófilos en el adulto y regulan la respuesta inmune contra los virus ARN liberando factores del eosinófilo como son la neurotoxina del eosinófilo y la proteína catiónica eosinofílica. Su función, es el reconocimiento del patógeno y la estimulación de la respuesta inmunitaria contra dichos patógenos.

También han sido encontrados en plantas, teniendo un origen evolutivo muy antiguo; después de las defensinas, pueden ser el componente del sistema inmune más antiguo.

Los distintos TLR exhiben varios patrones de expresión. Muchos de ellos se cree que actúan como homodímeros, aunque heterodímeros también existen. Las proteínas TLR tienen una significativa homología con el receptor IL-1 tipo I. Hasta hoy, alrededor de doce TLR han sido hallados en humanos y en el ratón. Estudios con varios TLRs demuestran que activan la vía del NF- κ B, que regulan la expresión de citocinas, a través de varias moléculas incluyendo el MyD88, TIRAP/Mai y TRF. La activación de la vía del NF- κ B conduce a la iniciación de la respuesta adaptativa inmune por la producción de citocinas inflamatorias tales como al IL-1, IL-8, TNF-alfa, IL-12, y la inducción de moléculas de co-estimulación, tales como la CD80, CD86 y CD40

TLR-4: reconoce lipopolisacáridos (LPS), característicos de la pared celular de las bacterias gram NEGATIVAS TLR-3: reconoce ARN de doble cadena. TLR-9: reconoce ADN con CpG no metilados.⁹

Inicialmente el gen Toll fue descrito en el contexto de una vía que describe el desarrollo dorso-ventral en el embrión de *Drosophila*. Siendo que en la etapa adulta, este gen codificaba para un péptido antimicrobiano. Pronto se encontraron semejanzas entre la vía dif/dorsal en *Drosophila* y la vía NF- κ B en mamíferos, al revelar que el dominio citoplasmático está conformado por dos proteínas transmembranales semejantes en ambos casos. El primer TLR en ser descrito en mamíferos fue TLR4, en 1997, justo un año después de dilucidarse el papel del Toll en *Drosophila*. El reconocimiento de proteínas estructural y funcionalmente relacionadas en mamíferos al Toll se denominó familia de receptores tipo Toll.

La familia de los TLR posee la estructura de glicoproteínas transmembranales tipo I, que en base a su considerable homología en la región citoplasmática pertenecen a la superfamilia de los receptores de Interleucina 1 (IL-1R). En contraste su región extracelular posee

motivos con repeticiones ricas en leucina (LRR), donde los IL-1R poseen tres dominios semejantes a las inmunoglobulinas. Se encuentran localizados principalmente en células inmunes profesionales: células mononucleares, dendríticas y macrófagos; además, se localizan en diferentes células epiteliales.

Su función principal es actuar en el reconocimiento de lo no propio y permitir el reclutamiento de las células profesionales para la posterior activación del sistema inmune adquirido. Mientras que su presencia en distintos epitelios los hace capaces de detectar en el tejido dañado por la infección o estrés ambiental cuándo la célula se encuentra en muerte celular y libera moléculas celulares endógenas.

La familia puede diferir en número entre especies, la mayoría de los mamíferos tienen entre 10 y 15 TLRs. En el humano se han reconocido solamente 11, que han sido subdivididos en cinco subfamilias de acuerdo a su localización cromosomal, estructura genómica y secuencia de aminoácidos: TLR2, TLR3, TLR4, TLR5 Y TLR9. La subfamilia TLR2 está compuesta por TLR1, TLR2, TLR6 y TLR10 y la subfamilia TLR9 por TLR7, TLR8 y TLR9. Las subfamilias restantes están integradas por un solo miembro. Cada TLR es activado por cierto(s) tipo(s) de PAMP, no obstante, es posible una comunicación cruzada entre receptores al asociarse entre sí o con moléculas adaptadoras, lo que aumenta la especificidad y amplía el patrón de PAMPs reconocidos por un mismo receptor.

El primero en ser estudiado fue TLR4, quien reconoce al lipopolisacárido (LPS) de la pared celular de Gram negativos, para el reconocimiento de su ligando requiere de asociarse a la proteína que se une a LPS, ese complejo a su vez interactúa con CD14, receptor de membrana de monocitos, macrófagos y PMN. Otra molécula se ha descrito para la activación de TLR4, MD-2, la cual actúa en ausencia de la proteína que se une a LPS. Actualmente se sabe que también TLR2 por sí mismo es activado por peptidoglicano y ácido lipoteicoico (LTA) presente en bacterias Gram positivas. TLR2 se asocia en el reconocimiento de LPS producido por *Leptospira*. Además otro tipo de estructuras lipídicas son reconocidas por TLR1 y TLR6. Cuando forma heterodímeros TLR2 con TLR1 o TLR6 participa también en el reconocimiento de diacil lipopéptidos y triacil lipopéptidos respectivamente. TLR5 reconoce la flagelina, componente monomérico del flagelo bacteriano. Cuatro TLRs tienen por ligando ácidos nucleicos (TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9) y su característica distintiva es su presentación citoplasmática, dentro del endosoma; TLR3 es receptor de RNA de doble cadena presente en los virus y de análogos de dsRNA como es el caso de Poly (I: C). Otros receptores activados por RNA viral

de cadena sencilla y por compuestos sintéticos como las imidazolquinolinas son TLR7 y TLR8. Finalmente TLR 9 reconoce CpG DNA viral y bacteriano. Se ha encontrado que TLR10 tiene una relación cercana con TLR1 y TLR6, al presentar una identidad en aminoácidos cercano al 50%; se encuentra altamente expresado en tejido linfoide, bazo y timo, aún no se han encontrado reportes sobre la identificación de su ligando. TLR11 se activa específicamente frente a una proteína derivada de *Escherichia coli* uropatógena.¹⁰

El primer homólogo de los receptores Toll de la *Drosophila melanogaster* fue identificado en mamíferos en 1997⁸². Estudios posteriores identificaron numerosas proteínas estructuralmente relacionadas con este primer receptor identificado que actualmente se conocen como receptores similares a Toll (TLR).

La familia actual de TLR consta de diez miembros en humanos (TLR1 a TLR10) y doce en murinos (TLR9 y TLR11 a 13).^{83,18} (Tabla 3)

Tabla 3. Receptores tipo Toll (TLR) ligandos, localización celular y especies estudiadas.					
Receptor	Ligando representativo	Tipos celulares		Localización en	
			las células	Especies	
TLR1	Triacil lipopéptidos	Macrófagos, otros tipos celulares		Superficie celular	Humana, ratón
TLR2	Peptidoglicanos	Células presentadoras de antígenos, células endoteliales		Superficie celular	Humana, ratón
TLR3	ARN de doble cadena	Células dendríticas, intestinales y Epiteliales		Intracelular	Humana, ratón
TLR4 ratón	Lipopolisacáridos	Células presentadoras de antígenos		Superficie celular	Humana,
TLR5	Flagelina	Epitelio intestinal basolateral		Superficie celular	Humana, ratón
TLR6	Zimosanos	Macrófagos, otros tipos celulares		Superficie celular	Humana, ratón
TLR7	ARN de cadena simple	Células presentadoras de antígenos		Intracelular	Humana, ratón
TLR8	ARN de cadena simple	No determinado		Intracelular	Humana
TLR9	CpG	Células presentadoras de antígenos		Intracelular	Humana, ratón
TLR10	No determinado	Células B		No determinado	Humana
TLR11	Profilina	No determinado		No determinado	Ratón
TLR12	No determinado	No determinado		No determinado	Ratón
TLR13	No determinado	No determinado		No determinado	Ratón

Desde hace aproximadamente diez años se conoce una familia de receptores asociados estrechamente con la respuesta inflamatoria, los cuales fueron descritos inicialmente en estudios realizados en la mosca del vinagre *Drosophila melanogaster*. Estos estudios describían una familia de proteínas estrechamente relacionadas, que reconocían patógenos particulares activando la cascada de la inflamación de una manera altamente específica. Gracias a estudios realizados por genética y biología comparativa se extrapolaron estas investigaciones a seres humanos con el fin de determinar la conservación de estas proteínas en especies superiores y verificar si cumplían con la misma función.

Los esfuerzos dieron resultados, y hoy se sabe que los toll-like receptors (TLR) descritos inicialmente en *Drosophila* existen en formas homólogas en seres humanos, se conoce de su existencia en todos los reinos, desde insectos y plantas hasta mamíferos superiores, con una homología sorprendentemente conservada. Varios estudios han dilucidado la estructura génica de diez receptores en humanos, cinco más están en camino, de estos, cinco receptores han sido estudiados a fondo (TLR-2, TLR-4, TLR-5, TLR- 6 y TLR-9). Los TLR hacen parte del sistema RRP y su importancia radica en su capacidad para reconocer patógenos, a diferencia de las otras moléculas mencionadas previamente. Consistentes con su papel de reconocimiento de moléculas foráneas del sistema inmune innato, estos TLR se encuentran ampliamente distribuidos en las diferentes células que podrían en algún momento servir de puerta de entrada o estar en contacto con los diferentes patógenos, tales como: monocitos/macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, células epiteliales intestinales y células endoteliales; también se han encontrado TLR-2 y TLR-4 en linfocitos B y T, pudiendo estar en algún momento relacionadas con la respuesta inmune adaptativa.^{84,19}

5.2. LIGANDO QUE ACTIVA EL RECEPTOR.

5.2.1. TLR3

Tiene una estructura única pues carece de residuos de prolina que son abundantes en otros receptores TLR. Se expresa en células dendríticas maduras. Su ligando es el ARN de doble cadena que se produce durante la replicación viral.

Durante la replicación de los virus, se produce ARN de doble cadena, potente inductor de genes de interferón alfa y beta y promotor de la actividad de células dendríticas.¹¹

5.2.2. FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN NUCLEAR kB (NF-kB).

Fue identificado inicialmente como un factor nuclear unido al promotor de la cadena ligera kappa de las inmunoglobulinas en linfocitos B.

El NF-kB es liberado de la subunidad inhibidora (Ik B) y traslocado al núcleo, donde promueve la actividad transcripcional de determinados genes. La señal de activación concluye por la nueva síntesis de la

subunidad inhibidora I κ B. Es interesante destacar que la propia expresión génica de I κ B se encuentra bajo el control de NF- κ B.

La activación de NF- κ B resulta en la regulación negativa de su propia activación por la inducción del inhibidor I κ B que se une al NF- κ B ligado al DNA y lo devuelve inactivado al citoplasma.

El NF- κ B promueve la expresión de un gran número de genes implicados en inflamación, tales como citocinas y moléculas de adhesión.

En mamíferos, la forma activa de NF- κ B se presenta como un homodímero o heterodímero de los 5 miembros de la familia NF- κ B, B-R el presente habitualmente de forma inactiva en el citoplasma.

Todas las proteínas de la familia presentan una zona característica por la que se unen a una secuencia consenso del DNA o sitio κ B: GGGRNYYCC, en la que R es una purina, Y una pirimidina y N cualquier base. Los diferentes dímeros del NF- κ B presentan afinidades diferentes a los sitios κ B y también varían en su capacidad de activar la transcripción. (Tabla 4).

Tabla 4. Genes dependientes de NF-k B

Cadena ligera kappa de IgG
Citocinas: -Interleucinas IL-1; IL-2, IL-6 y sus receptores (IL-2R) -Quimocinas IL-8, GRO, IP-10, MCP-1, RANTES, MIP-1, eotaxina -Factores estimulantes de colonias: M-CSF, GM-CSF, G-CSF -TNF-a , TNF-b , interferon-b
Moléculas de superficie implicadas en funciones inmunológicas -Cadena b del receptor de linfocitos T -b 2- microglobulina -Moléculas de adhesión (selectina, ICAM, VCAM, ELAM) -Antígenos del sistema mayor de histocompatibilidad (clase I, clase II)
Enzimas 'inflamatorias': -Sintetasa inducible de óxido nítrico -Ciclooxigenasa 2 -5-Lipooxigenasa -Fosfolipasa A citosólica
Genes de respuesta de fase aguda: -amiloides séricos A -angiotensinógeno -complemento (B,C4) -ferritina -factor tisular -metaloproteasas
Genes implicados en proliferación, ciclo celular, 'antiapoptosis', factores de transcripción, -c-rel -c-myc -IFR -ciclina D1 -inhibidores celulares de la apoptosis (IAP1, IAP2), TRAF1/Bfl1

5.2.3. Proceso de activación del NF- κ B

La activación de NF- κ B puede producirse como consecuencia de una gran variedad de estímulos tanto fisiológicos, como patológicos. (Figura 13).

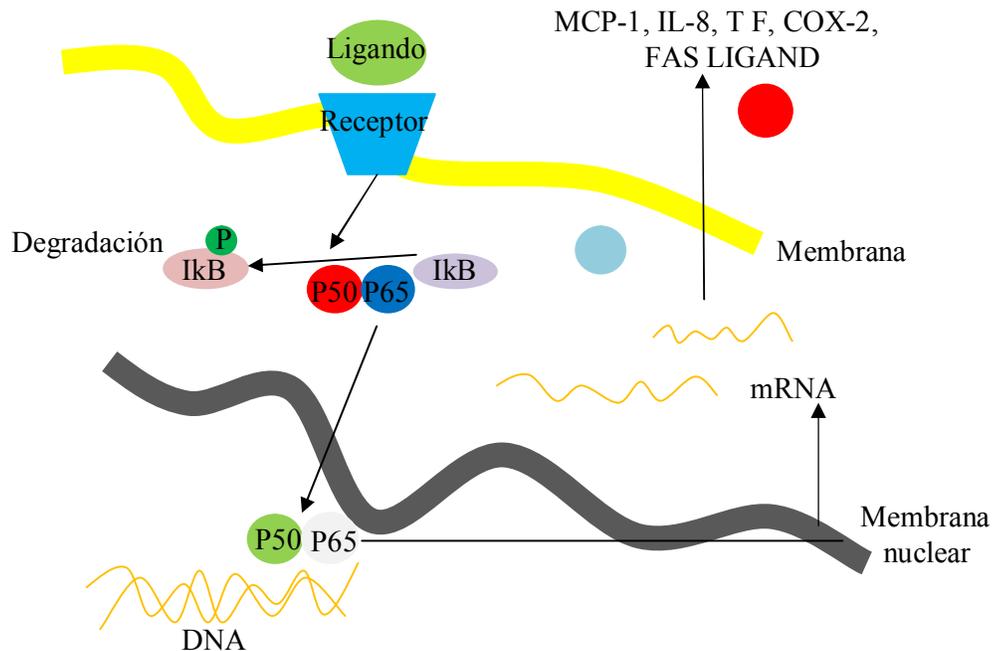


Fig. 13. Activación del NF- κ B.

Se conoce con más precisión el modo de activación derivado del estímulo con citocinas tales como IL-1 β y TNF- α . Sin embargo, las principales vías de activación comparten ciertas características. En primer lugar, tras un estímulo intenso, se produce la rápida fosforilación y poliubiquitinalización de I κ B y su degradación proteolítica por el proteasoma en escasos minutos. Como resultado, las secuencias de localización nuclear de NF- κ B quedan expuestas y se produce la traslocación nuclear del mismo. Se han descrito otras formas de activación 'atípicas', más débiles y lentas. En general, los estímulos proceden mediante la activación de receptores de membrana, que mediante otras proteínas adaptadoras (v.gr. TRAF) activan una cascada de fosforilación de proteínas (proteín-cinasas de la familia MAP) que resulta en la activación de la cinasa responsable de la fosforilación del propio I κ B. Aunque el mecanismo de activación a partir de determinadas citocinas como IL-1 β y TNF- α está bastante aclarado, quedan todavía muchos puntos por dilucidar. Por ejemplo, es bien conocido que en esta activación participan especies reactivas del oxígeno en algún punto no determinado. Esta es la base de la capacidad de ciertas moléculas antioxidantes para interferir con la activación de NF- κ B. Una vez en el núcleo, los diferentes dímeros de la familia NF- κ B se unen con afinidad variable a los genes correspondientes produciendo distintos grados de transactivación. Esta variedad proporciona una sutileza adicional en la regulación selectiva de diferentes genes en respuesta a distintos estímulos en diferentes estirpes celulares. Así mismo los dímeros NF- κ B no producen la transcripción de modo aislado, sino como parte de un complejo de coactivadores. Por último, NF- κ B interactúa con otros factores de transcripción de modo positivo o negativo. Uno de los factores de transcripción más a menudo asociado a NF- κ B es la proteína activadora 1 (AP-1). Tanto NF- κ B como AP-1 se activan en respuesta a ciertos estímulos proinflamatorios, pero divergen en la respuesta al estrés oxidativo. NF- κ B actúa de modo sinérgico con otros factores de transcripción como el factor nuclear IL-6 (NF-IL6) en la estimulación de diversos genes 'inflamatorios' (citocinas, iNOS). En sentido contrario, la interacción física de NF- κ B con otros factores de transcripción como el receptor de glucocorticoides, impide la unión de NF- κ B al DNA, evitando la transactivación de los genes implicados. Este es uno de los mecanismos principales de la acción inflamatoria de los esteroides. De modo adicional, los esteroides estimulan la transcripción de la proteína inhibidora I κ B α . De esta manera los esteroides pueden inhibir la expresión de una gran variedad de genes que carecen en su promotor de secuencias de respuesta a esteroides.

Fuente: <http://www.gtcv.org/noticia23.php>

5.2.4. NF-κB Y CÉLULAS VASCULARES. ESTUDIOS *IN VITRO*.

Gran número de estudios *in vitro* han demostrado que diversas sustancias presentes en el microambiente de la placa ateromatosa pueden inducir la activación de NF-κB en células de la pared vascular. Tanto las lipoproteínas nativas como las oxidadas, así como las VLDL, inducen la activación de NF-κB y la expresión de genes proinflamatorios por parte de células endoteliales, musculares lisas y monocitos-macrófagos (Figura 14).¹²

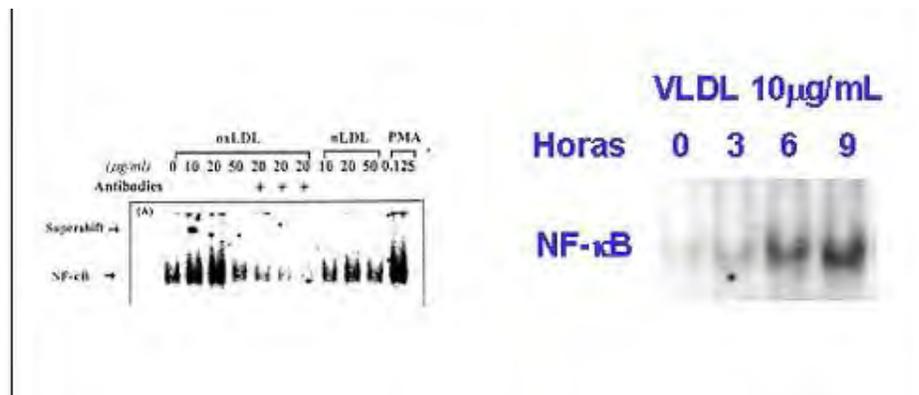


Fig. 14. Estudio *in vitro* del NF-κB.

En efecto, las lipoproteínas oxidadas promueven la expresión del receptor AT1 de la angiotensina por un mecanismo dependiente de NF-κB. La estrecha relación de los mecanismos de control de tensión arterial e inflamación ha sido puesta de manifiesto recientemente. La angiotensina II promueve la activación de NF-κB y la expresión de MCP-1 en células musculares lisas y monocitos. Aunque los mecanismos moleculares por los cuales la angiotensina II induce la activación de NF-κB no están dilucidados, parece que tanto los receptores AT1 como los AT2 pueden estar implicados en esta activación. De este modo se ha demostrado que la activación del sistema renina-angiotensina puede tener un efecto pro-inflamatorio y por lo tanto acciones deletereas sobre el árbol vascular más allá del aumento de la presión arterial. La inhibición de la activación de NF-κB por angiotensina con antioxidantes sugiere que las especies reactivas del oxígeno están implicadas en el proceso de activación. Aunque la importancia del sistema redox en la activación de NF-κB inducida por una gran variedad de estímulos parece clara, la evidencia de la misma es fundamentalmente indirecta.

Fuente: <http://www.gtcv.org/noticia23.php>

5.2.5. LIGANDOS TLR3.

El receptor TLR3 se expresa en diversas células del sistema inmune como células dendríticas, eosinófilos, macrófagos, NK y monocitos. Su localización depende del tipo celular, por lo que se puede encontrar en compartimentos endosomales o en la superficie celular. Reconoce ARN doble hebra (dsARN) viral que se produce como intermediario en el ciclo de replicación viral o como parte del ARN genómico viral. Luego de la activación del receptor por unión de su ligando se induce la producción de interferón tipo I (IFN-I) que posee efecto antiviral e inmunoestimulador^{85,86}. Mastocitos humanos expresan TLR3 y son capaces de responder a su ligando sintético produciendo interferón

alfa (IFN- α)⁸⁷, sugiriendo así, un rol inmunomodulador del TLR3 en la respuesta innata a infecciones virales.²⁰

TLR3 es activado por el ácido policitidilico-poli-inosínico (poly (I:C)), un análogo de doble cadena de RNA (dsRNA), así como por la infección viral asociada a dsRNA⁸⁸. TLR3 es muy distinto a otros TLRs ya que no depende del factor de diferenciación mieloide 88 para la señalización. El ligando y el dominio TIR del TLR3 es la molécula adaptadora intercelular TICAM-1, también conocido como TRIF (TIR que contienen adaptador de inducción de IFN β)^{89,90}. Este adaptador lleva a la producción de citocinas antivirales, como el IFN β . TLR3 se expresa específicamente en las células inmunes, como las células dendríticas y las células asesinas naturales, así como en los fibroblastos y las células epiteliales intestinales^{91,92,93,16}

La asociación de los TLRs con sus ligandos activan una compleja cascada de eventos que conduce a la inducción de genes proinflamatorios^{94,95,96}. Las familias de los receptores de las interleucinas 1 y los TLR comparten moléculas que participan en la transducción de la señal⁹⁶, como son las moléculas adaptadoras MyD88, TICAM/TIR, TIRAP y TRAM^{97,98,99}, las quinasas asociadas a IL-1R (IRAK), TBK1 e IKK1 y el factor 6 asociado al receptor del factor de necrosis tumoral (TRAF6). Las vías de señalización son diferentes para cada TLR y se han reportado que son fundamentales en la activación la dependiente de MyD88 y la activación independiente de MyD88¹⁰⁰. En las células dendríticas la activación de los TLR7, TLR8 y TLR9 produce la activación de una única vía de señalización dependiente de MyD88 que resulta en la inducción del interferón (IFN) β . En macrófagos, la vía de activación a través de los TLR3 y TLR4 induce la producción de interferón por una vía de señalización independiente de MyD88¹⁰⁰.

Como resultado final de la transducción de la señal se producirá la activación de los macrófagos con la subsiguiente producción de citocinas como son: el factor de necrosis tumoral, la interleucina (IL) 1B y la IL-6, que en acción coordinada producen respuestas inflamatorias locales y sistémicas. Además se producirá la activación del complemento, la opsonización del patógeno para su fagocitosis, y por lo tanto, indirectamente, los TLR desarrollan una actividad antimicrobiana. Esta respuesta antimicrobiana también puede producirse directamente a través de la producción de péptidos y proteínas antimicrobianas en los macrófagos¹⁰¹.

5.2.6. Polimorfismos en el TLR3.

TLR3 reconoce poli (I: C) (poli-inosina: ácido policitidílico) un análogo sintético del ARN de doble cadena y el ARN de doble cadena viral. Existen pocos resultados respecto a polimorfismos en el TLR3 y su asociación con infecciones u otras enfermedades. Se han reportado daños (con importancia clínica desconocida) en la transducción de señales provocada por polimorfismos SNP (A722T, C1234T, T908C) en el TLR3 de células transfectadas. Puede haber asociación entre polimorfismos 1378 G y RS3775296 en el TLR3 con secuelas oculares producidas por el síndrome de Stevens-Johnson.¹⁸

Se describen recientes avances emergentes de temas de nuestra comprensión con evasión en la detección de virus por los PRR del huésped, y cómo los virus inhiben y manipulan los señalamientos de PRR para ganar una ventaja temprana más de la respuesta inmune. Se describen estrategias virales que la función proximal de distintos PRRs (tales como TLRs o RLRs), también los que actúan con los componentes en común del señalamiento de la cascada de los PRR (tales como IFN- factores reglamentarios de (IRFs) o Factor Nuclear- κ B (NF- κ B).

5.2.7. MODULACIÓN VIRAL DE LA ACTIVIDAD DE NF κ B.

El rol de NF κ B durante la infección viral es más complejo que el IRF3 e IRF7. Aunque NF κ B está involucrado e induce la producción de IFN β y quimiocinas, para los efectos virales, NF κ B inhiben la apoptosis y promueve la proliferación de células, que benefician al virus. La apoptosis es una importante estrategia de la supresión del virus de células infectadas.

Algunos virus activan NF κ B y previenen las células sometidas a apoptosis¹⁰². A principios de la infección de los virus pueden bloquear temporalmente la actividad de NF κ B y un retraso en la respuesta inmune innata en el establecimiento de la infección y los virus menos vulnerables se eliminan.

Muchas funciones de NF κ B ilustran la dinámica natural de la activación del factor de transcripción que se continua ajustado a responder las necesidades precisas de las células, o como puede ser el virus.¹⁵

Información detallada acerca de cómo se activan y funcionan realmente los TLR se obtuvo en estudios de la cascada inflamatoria y

su activación en relación con algunos antígenos específicos en el contexto de shock séptico por Gram negativos. En estos experimentos se descubrió que el TLR-4 es específico para el lipopolisacárido (LPS) de las bacterias Gram negativas. Este último se une a un receptor soluble específico llamado LBP (lipopolysaccharide binding protein o proteína asociadora de lipopolisacárido), el cual cumple la función de opsonina, amplificando la señal. Este complejo LPS-LBP se une a un receptor de superficie, el cual no tiene la capacidad de traducir la señal al interior de la célula pero sí inicia la cascada de activación, este es el CD14.

Este CD14 necesita de co-receptores para llevar a cabo la respuesta elicitada, estos receptores son: el TLR-4, que inicia consecuentemente la vía de activación inflamatoria, y el MD-2, que parece jugar un papel "sensibilizador" al LPS. La vía de activación de los receptores tipo Toll es muy similar a la de la IL-1, por lo tanto, se sabe que la activación final depende de proteínas de señalización compartidas, en la cual el estímulo inicial produce la activación del receptor de superficie, el lípido A del LPS produce activación del TLR-2 que a su vez produce activación de Myd88 (factor diferenciador mieloides 88), el cual asociado a IRAK (quinasa asociada al receptor de IL-1) activa a la proteína TRAF-6 (factor asociado al receptor de TNF), las cuales inducen varias IKK's produciendo la fosforilación de I κ B con la consecuente liberación del NF- κ B y la transcripción de citoquinas pro inflamatorias, como la IL-1, IL-12 y el TNF- α ¹⁰³.

5.2.8. Factor nuclear- κ B (NF- κ B).

Es un factor de transcripción que participa en inmunidad e inflamación, normalmente está unido en el citoplasma a I κ B. Estrés, citoquinas inflamatorias y productos microbianos resultan en la fosforilación de I κ B por parte de la quinasa I κ B (IKK), con la consecuente translocación del NF- κ B al núcleo y la consecuente transcripción génica. El NF- κ B se encuentra presente en todas las células, pero existe una sobreexpresión en los pacientes con ARN, debido a la estimulación producida por el TNF- α y la IL-1 a los fibroblastos sinoviales, lo que se traduce en una producción elevada del IKK^{104,19}.

Los ligandos TLR3 también se prueban en agentes de maduración in vivo por CDs y usan ensayos clínicos en pacientes con diferentes tipos de cáncer¹⁰⁵, tales como cáncer cerviouterino, o melanoma¹⁰⁶.

La mayoría de los estudios en la disección de los mecanismos moleculares de las vías de señalización de TLR3, se realizan en diferentes células de DCs.

La descripción de las vías de señalización se divide en 3 partes:

1.- El receptor, detección de estímulos, 2.- la transducción de aparatos, transformando la señal de entrada en cambios transcripcionales, y resultados, incluyendo genes y proteínas con expresión modulada sobre TLR3, y contribuye a los efectos de las funciones celulares tales como los estatus antivirales y la polarización de células T.

5.3. DETECCIÓN DE ESTÍMULOS.

5.3.1. LIGANDOS TLR3.

Alexopoulou et al. (2001)¹⁰⁷, inicialmente descubrió las dsRNA son ligandos específicos del TLR3 porque demostraron que el receptor reconoce y responde al dsRNA viral y sintético pero no a la cadena simple de homopolímero (ss) RNA. Ds RNA es producido o intermediado por el ciclo de replicación del genoma RNA viral¹⁰⁸. Más allá el TLR3, dsRNA es reconocido por varios otros sensores citosólicos, tales como la proteína quinasa R, 2'5' oligoadenilato sintetasa, y la más recientemente identificado el RNA helicasa RIG-I (ácido retinoico, de la inducción de gen 1) y MDA5 (diferenciación asociada al melanoma del gen 5)¹⁰⁹. El TLR3 y RIG-I/MDA5 RNA helicasa difieren en su localización celular de los ligandos específicos, e induce la respuesta antiviral de la diferente vía de señalización. Sin embargo, la señalización a través de ambos tipos de receptores de reconocimiento de patógenos que convergen en la inducción del tipo I de IFN y conduce a la eliminación de los virus¹¹⁰. Esto sugiere que los mecanismos de defensa múltiples pueden contribuir a la defensa agonista de la infección viral. Además del origen viral dsRNA, endógenos liberados dsRNA y activar células muertas de TLR3¹¹¹. TLR3 también responde a la estimulación celular de transcripción RNAs in vitro. Aunque típicamente se considera que la ssRNA, celular e in vitro puede transcribir RNA de estructuras secundarias que contienen secuencias de doble cadena^{111'112'113}. Más recientemente, se ha demostrado que TLR3 también responde a ssRNA, aumenta las preguntas de si es realmente y simplemente un receptor de dsRNA¹¹².

Poli ribocytidylic acidé [poli (I: C)] Poly riboinosinic, es un análogo sintético de dsRNA, ha sido ampliamente utilizado como ligando del TLR3 en respuesta a la infección viral¹¹⁴. En contraste también hay receptores intracelulares, TLR3 reconoce poli (I: C) en lugar de dsRNA en virus derivados, lo que sugiere que TLR3 se une a una estructura única que dsRNA en gran medida difiere de la que reconocen otras proteínas de dsRNA¹¹³. Por otra parte, poli (I: C) muestra una mayor afinidad en activación de TLR3 que las hebras dsRNA solubles, lo que sugiere que el análogo sintético es más potente. Poli (I: C) es el agonista más utilizado en la activación de TLR3 *in vitro*, ente sus efectos se encuentran que puede producir efectos secundarios tóxicos *in vivo*, incluyendo shock, insuficiencia renal, coágulo y reacciones de hipersensibilidad. Otro análogo similar al poli (I: C) es poli (I: C12U), que contiene uridilico en sustitución de nucleótidos de citidina presentes en polyI:C, algunas diferencias se han reportado en la actividad funcional de poli (I: C12U) con respecto a la poli (I: C) como en los estímulos de maduración linfoides y en la señalización ya que activa tanto TLR3 y la MDA5 citosólica helicasa¹¹⁵.

5.4. EL PAPEL DEL TRIF EN LA ACTIVACIÓN TRANSCRIPCIONAL.

TLR3 activa señales mediante la proteína adaptadora TRIF (Domino Tir que contiene a la molécula adaptadora inductora de IFN β). En ratones TRIF, presenta una respuesta defectuosa al tratamiento con poly (I: C)¹¹⁶. TRIF indirectamente activa varios factores de transcripción entre los que se encuentran IRF3, NF-kB y el factor activador AP-1 lo que conduce a la expresión de IFN tipo I, producción de citocinas y la maduración de células dendríticas¹¹⁴. Estudios muestran que al estimular las células TRIF se moviliza a las vesículas que contienen TLR3 y posteriormente se separa. Por lo que sugiere que TRIF actúa como una plataforma que interctúa con las moléculas involucradas en la señalización celular.

5.5. TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES.

Existen tres módulos principales en la señalización por TLR3, a saber IRF3, NF-kB y AP-1.

5.5.1. MÓDULO IRF3.

Este factor de transcripción tiene como función principal la regulación de la expresión de genes como IFN tipo I. Este factor de transcripción se expresa de forma constitutiva en todos los tipos celulares y es activado por la fosforilación de residuos de serina y treonina del extremo carboxilo terminal. La fosforilación promueve la homodimerización y translocación lo que permite la interacción con la proteína de asociación a cAMP (CBP/p300), que acetila a los homodímeros IRF2 lo que ocasiona un cambio conformacional y facilita la unión al DNA¹¹⁷.

La activación de IRF3 ocurre después de la formación del complejo TLR3-TRIF y requiere del reclutamiento de proteínas adaptadoras y de cinasas. La proteína adaptadora TRAF3 es la unión entre TRIF y las cinasas. Una de estas cinasas es la proteína asociada NAK- (NAP-1). Algunos estudios sugieren que participa la proteína cinasa C.

5.5.2. MÓDULO NF-kB.

La familia del factor de transcripción se requiere para la expresión de mediadores de respuestas inflamatorias. Cinco proteínas pertenecen a esta familia entre las que se encuentran p65 (Rel-a), c-Rel, RelB, p50 (NF-kB1) y p53 (NF-kB2).

NFkB es un factor de transcripción muy importante, que tiene funciones muy amplias y que desempeña un papel fundamental en muchas respuestas celulares, es el factor nuclear kB (NF-kB). NF-kB se identificó como regulador de la expresión del gen de la cadena ligera kappa de los linfocitos B murinos, pero se ha encontrado en muchos tipos de células. La forma activada de NF-kB es un heterodímero, que generalmente se compone de dos proteínas, las subunidades p65 y p50. En células estimuladas, NF-kB se encuentra en el citoplasma y está unido a IκB, lo que le impide penetrar en el núcleo. Cuando estas células se estimulan, diversas quinasas específicas fosforilan IκB, produciendo su rápida degradación por proteasomas. La disociación de IκB de NF-kB origina el paso NF-kB al núcleo, donde se une a secuencias específicas de las regiones promotoras de los genes diana. NF-kB se activa por muchos de los factores que participan en la respuesta inflamatoria.

Esta activación, como consecuencia, origina la expresión coordinada de diferentes genes que codifican proteínas, como citoquinas,

quimiocinas, moléculas de adhesión y enzimas implicadas en la iniciación y permanencia de la respuesta inflamatoria.

La activación de NF- κ B se realiza mediante la activación de proteína interactuadora del receptor (RIP)1 o por TRAF6. La región del carboxilo terminal de TRIF contiene el motivo de interacción con TRIF. En ratones que no expresan RIP1, no pueden activar a NF κ B¹¹⁸.

La actividad de NF- κ B contribuye a la transcripción de INF y de las citocinas y quimiocinas (IL6, TNF, IL-12 y CCL3).

5.5.3..MÓDULO AP1.

El factor de transcripción AP-1 consiste en dímeros compuestos de Jun, Fos y la familia de proteínas activadoras de la transcripción¹¹⁹. La activación de AP-1, generalmente requiere la inducción transcripcional del gene Fos y la fosforilación de Jun, la cual es controlada por la proteína activada por mitógeno p38, que se activa cuando interactúa con TAK-1.

La activación de AP-1 ocurre por debajo del reclutamiento de TRIF¹¹⁴. En células MDDC la estimulación con poly(I:C) requiere de la fosforilación de fos y jun ^{120,121,122}y de esta forma se incrementa la actividad de AP-1¹²². Algunos estudios sugieren que cuando se inhibe a la proteína activada por mitógeno JNK las células dejan de sintetizar IL 12. En células dendríticas AP-1 participan en la inducción transcripcional de citocinas y quimiocinas como IL-6, TNF y CCL3.

5.5.4. ACTIVACIÓN DE PI3K-AKT.

AKT o proteína cinasa B es una cinasa con actividad en serina/treonina. La fosforilación de AKT ocurre tras la activación de PI3K¹²³. Sin embargo a la fecha no se ha podido determinar con certeza el papel de AKT en la señalización de TLR3.¹³

6.- ESTRUCTURA DEL RECEPTOR.

Los TLR pertenecen al tipo I de glicoproteínas integrales de membrana que se caracterizan por presentar un dominio extracelular rico en leucina (LRR) y un dominio intracelular, o citoplasmático, homólogo

al receptor de la interleucina 1 (IL-1R) que posee una región conservada de 200 aminoácidos denominado dominio similar al receptor de interleucina, (Toll/IL-1) (TIR)^{124,125}.

La homología entre los TLRs y el receptor de la interleucina 1 se limita al dominio citoplasmático pues el extracelular es marcadamente diferente. Mientras el IL-1R posee un dominio extracelular similar a las inmunoglobulinas, los TLRs contienen dominios ricos en leucina que son los responsables del reconocimiento de las PAMPs, de bacterias, virus, parásitos y hongos^{126,127}. (Fig. 15)

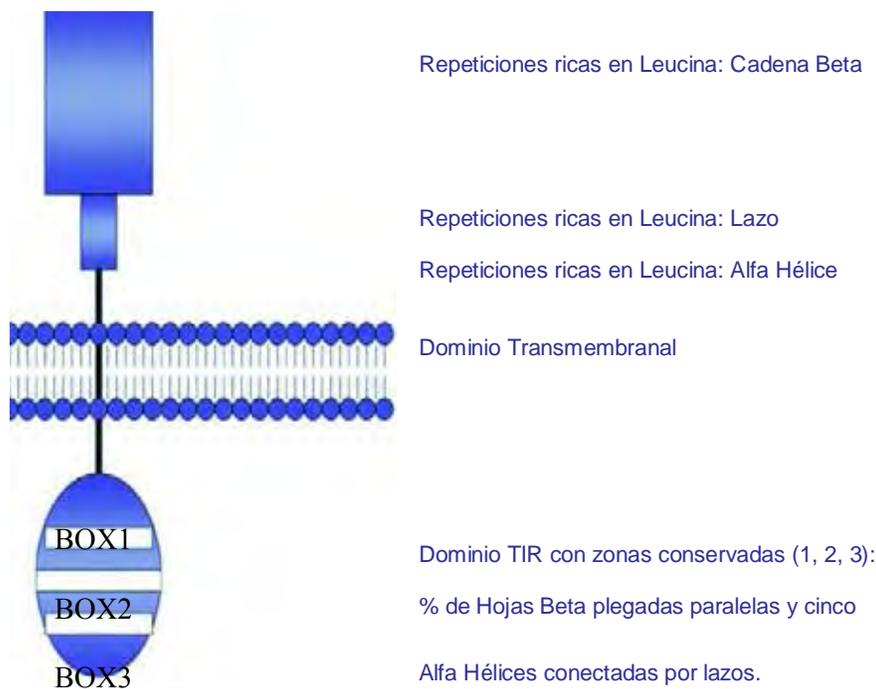


Figura 15. Estructura de los receptores similares a Toll.

Los receptores de peaje Toll se clasifican como glicoproteínas integrales de membrana. Se observan las repeticiones ricas en leucina que están involucradas en el reconocimiento de los patrones moleculares asociados a patógenos y posteriormente en la transducción de la señal a través del TLR. El dominio citoplasmático TIR está dividido en tres zonas conservadas (box) que varían en tamaño y son críticas para la señalización, sus cadenas laterales participan en la interacción con las moléculas adaptadoras. En la figura se destacan los tipos y las zonas de localización de las estructuras secundarias. Fuente: Papel de los polimorfismos genéticos de los receptores de peaje (Toll-R) en la enfermedad y el trasplante.

Aunque la mayoría de los TLRs funcionan como homodímeros, el TLR2 forma heterodímeros con los TLR1 y TLR6 y cada dímero posee una especificidad diferente. Los TLR también dependen para su función de otros correceptores como en el caso del TLR4 que requiere de una proteína (MD2) que es secretada y participa en el reconocimiento de los lipopolisacáridos de la pared bacteriana (LPS), además para facilitar la presentación de LPS a MD2 también participan moléculas como CD14.¹⁸

En general la estructura del receptor mostró que presentan una estructura herradura de gran forma, la mano derecha del solenoide está compuesta de 23 ricos en leucina y de repeticiones de regiones ricas en leucina (LRR) (Figura 16).

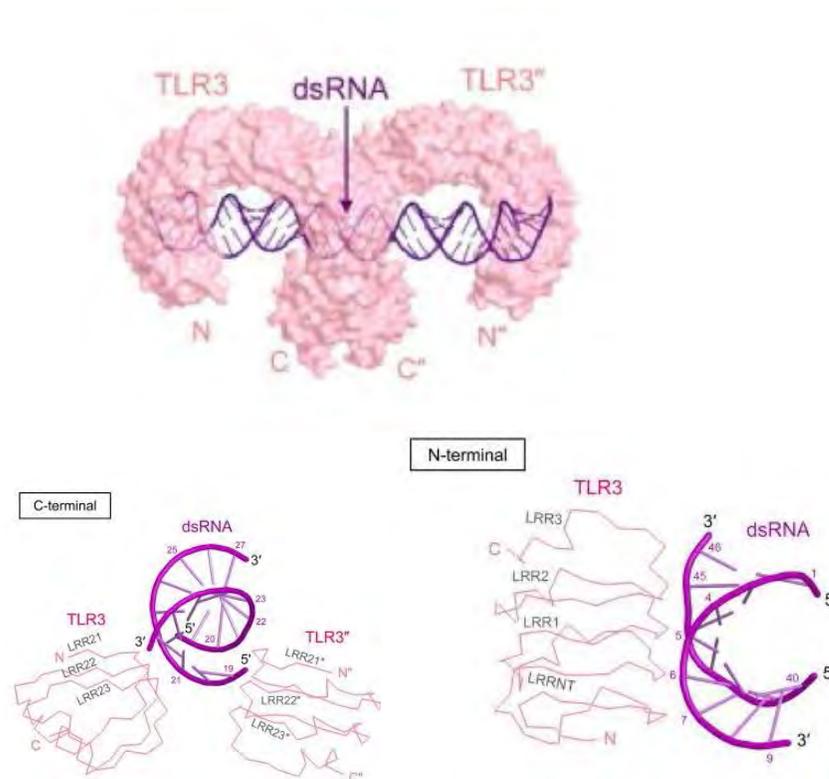


Fig. 16. Estructura general del TLR3 en humanos.

Forman homodímeros, reconocen dsRNA, interactúan con los extremos carboxilo y amino terminal en la región convexa., la interacción en el amino terminal está compuesta por LRRNT y por los módulos LRR1-3. El carboxilo terminal por los módulos LRR19-21, la carga positiva de los aminoácidos en el extremo carboxilo interactúa con las cargas negativas del dsRNA.

La superficie interna cóncava se forma a partir de 25 estructuras β -plegadas, 23 de LRRs y uno en la región amino terminal y otro en la región carboxilo, que hace que los receptores adquieran una estructura curvada. La hoja β -plegada se extiende 270° formando una estructura en arco. La superficie convexa exterior contiene una variedad de diversos elementos estructurales secundarios. La región LRRs de TLR3 sigue un patrón típico de una repetición de 24 residuos que consiste en la organización que se representa a continuación $xL2xxL5xL7xxN10xL12xxL15xxxxF20xxL23x$, donde L representa residuos hidrofóbicos, incluidos los de leucina (más frecuente),

isoleucina, valina, metionina y fenilalanina, F es un fenilalanina conservadas, y N una muy conservada asparagina. Conserva así mismo siete residuos hidrofóbicos en este motivo, lo que forma un núcleo apretado hidrofóbico como estructura de solenoide y una asparagina¹²⁸ que se conserva en la posición 10, de igual forma la presencia de puentes de hidrógeno hace extensiva la formación de redes con los motivos LRR.¹⁴

La estructura de cristal del TLR3 ECD en humanos tiene forma de herradura compuesta por 23 LRRs, que tienen un tope en ambos extremos por la característica de la estructura N- y C- terminal y su superficie es ampliamente modificada con N- glicanos vinculados.

Los mecanismos subyacentes a la función TLR3 y localización intracelular en el nivel estructural, a llamado nuestra atención en los cambios conformacionales en el receptor de ectodominio de TLR3, especialmente la ionización de las cadenas laterales de histidina¹⁶.

TLR3 tiene 15 sitios de glicosilación potencial, sin embargo a la fecha se han caracterizado 8 de estos sitios. Contrariamente a la creencia común de que el espacio cóncavo interno contiene un sitio de unión al ligando, la superficie interior cóncava de TLR3 tiene dos sitios de glicosilación y muchos residuos cargados negativamente que lo convierten en un sitio poco probable unión de dsRNA. En la figura 17, se muestran dos sitios funcionales en la cara glicosilación libre de TLR3. (Fig. 17).

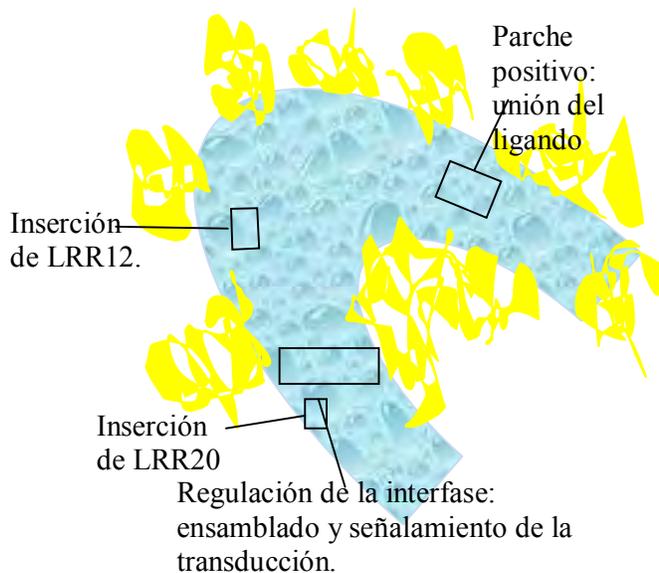


Fig. 17. Sitios funcionales en la glicosilación libre de TLR3.

La ubicación de los parches positivos y uno de los dos grandes inserciones en LRR12 que están implicados en unión del ligando se indican. La superficie conservada y la otra gran inserción TLR3 específico (LRR20) se asigna a la interface de dimerización. azúcares Oligomannose tipo son dibujado en amarillo.
<http://ssrl.slac.stanford.edu/research/highlights archive/tlr3.pdf>

La superficie conservada y la otra gran inserción TLR3 específico (LRR20) conforman la región de dimerización, los azúcares tipo oligomannosa son dibujados en amarillo. La cara de glicosilación libre contiene dos parches de la superficie con un grupo denso de forma positiva residuos cargados y la inserción TLR3 específica en que LRR12 podría desempeñar un papel en la unión dsRNA. Este también contiene una superficie altamente conservada que coincide la región de homodímero observado en el cristal y otra TLR3- inserción específica (LRR20) que participa en la interacción dímero (Figura 16). Sobre la base de la localización de sitios de glicosilación, el potencial electrostático de la superficie, la inserción de TLR3 específicos y la formación de dímeros, ha llevado a la propuesta de un modelo para el sitio de unión del dsRNA y la activación de la señal de transducción.¹⁴

Los TLR3 fueron identificados hace 10 años como un receptor de doble cadena de RNA (dsRNA) ¹²⁹, cuyo compromiso inducen a la producción del tipo 1 de (IFN). TLR3 agonista es bien establecido y activador potente de maduración de DC. Ambas actividades contribuyen al rol importante del TLR3 en la inmunidad antiviral y la

inducción de la inmunidad adaptativa. En la actualidad gran interés en la explotación de TLR3 agonistas en el desarrollo de vacunas. Estudios clínicos han investigado el potencial de agonistas del adyuvante de la inmunidad antiviral, y estudios de la fase II han demostrado algunos beneficios inmunológicos de TLR3 agonista en enfermedad HIV.¹³⁰ (Fig. 18).

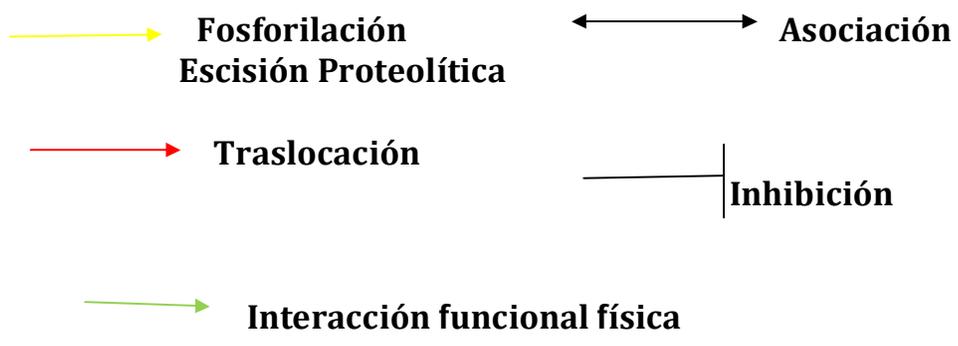
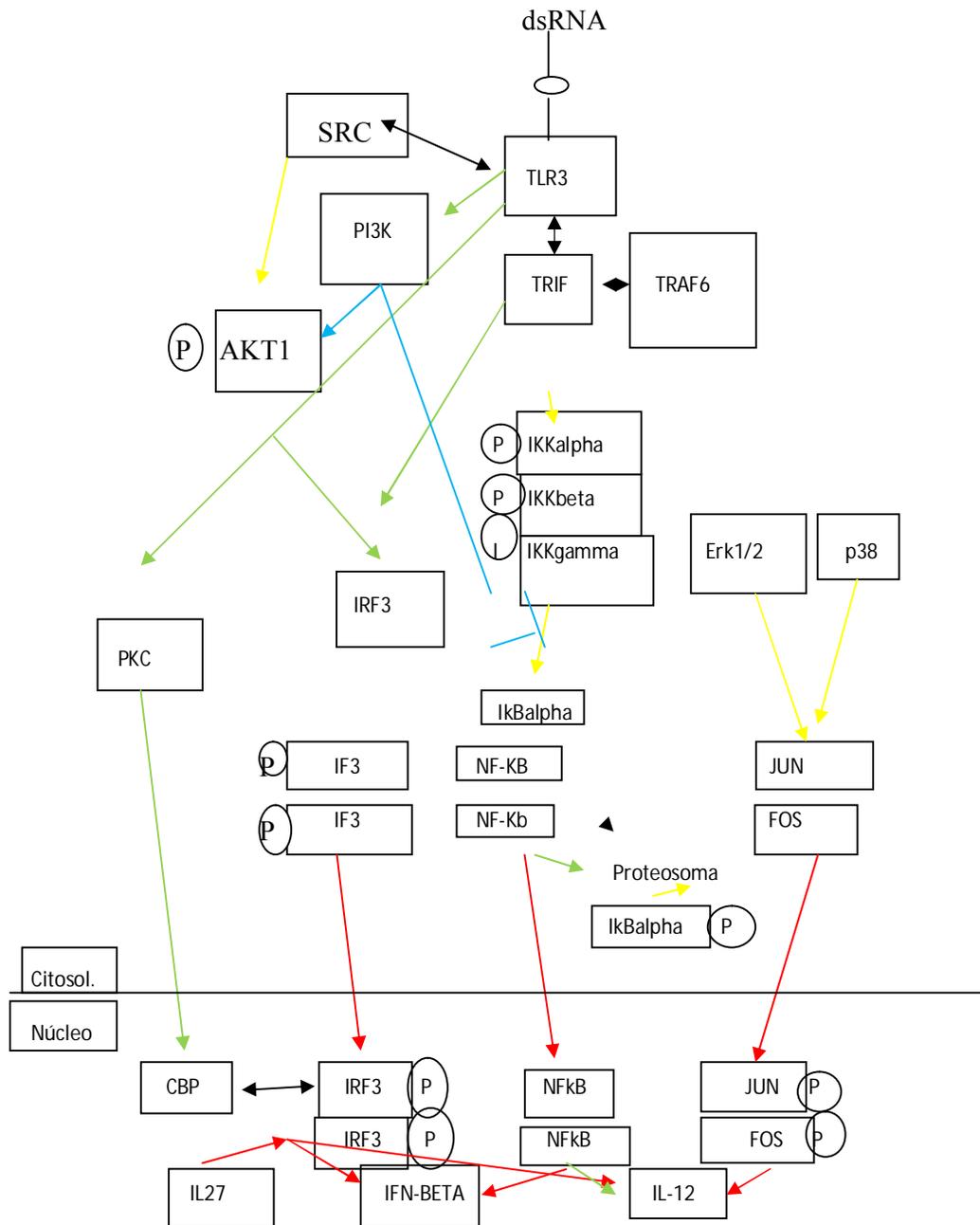


Fig. 18, Vías TLR13-D.C.

Una representación esquemática de la TLR3-DC vía de señalización se basan en la evidencia experimental directa alcanzados en diferentes subgrupos de países en desarrollo del ratón y del origen humano. Fuente: Dissecting TLR3 signalling in dendritic cells

En fechas recientes se ha demostrado que TLR3 también responde al tratamiento con RNA de cadena sencilla (ssRNA), lo que ha llevado a cuestionarse la afinidad que tiene el receptor por su ligando. Por otra parte, los receptores TLR3 intracelulares, reconocen de manera preferencial a poly (I: C) sintético, lo que sugiere que el receptor reconoce a única estructura de dsRNA que ampliamente difiere de las proteínas que unen dsRNA.

6.1 EXPRESIÓN DE RECEPTORES TLR3 Y LOCALIZACIÓN SUBCELULAR.

Como los otros miembros de la familia de receptores TLR, TLR3 es una proteína transmembranal típica tipo 1, compuesta de una ectodominio que contiene múltiples repeticiones ricas en leucina, una región transmembranal y una región citoplasmática que contiene el dominio receptor interleucina1/Toll (TIR)¹³¹. En solución TLR3 es monomérica pero de forma transitoria puede formar dímeros cuando se embeben en membranas, la asociación del ligando puede conformar estructuras multiméricas^{132'133}.

El ARNm de TLR3, se ha detectado en varios tejidos humanos incluyendo la placenta, páncreas, pulmón, hígado, corazón, ganglios linfáticos y cerebro y en tejidos de las vías respiratorias y el sistema gastrointestinal y urogenitales^{134'135'136}. En el cerebro, tanto humanos como células neuronales expresan TLR3¹³⁷ a nivel transcripcional, el receptor TLR3 se ha detectado en una gran variedad de células del sistema inmune humano y el ratón como linfocitos T, células asesinas (NK), los macrófagos, células T y mastocitos^{138'139'140'141}. Aunque la expresión del ARNm de ambos TLR3 es inducida por el IFN- β , la expresión regulada por la estimulación con LPS sólo se ha observado en células humanas ratón y los genes murinos son TLR3 regulada a través de diferentes regiones promotoras que probablemente median las diferencias de cada especie observada.

La localización de expresión y celular de las proteínas TLR3 es regulada de forma específica dependiendo del tipo celular, y fibroblastos y células epiteliales TLR3 tanto dentro de la célula como en la superficie celular.

Así mismo, los mastocitos expresan TLR3 en el citoplasma y en la superficie. La expresión de TLR3 también se detecta en la capa basal de la piel humana. Se ha caracterizado una alta expresión intracitoplasmática en los queratinocitos, bajos niveles son presentados en la superficie intracelular. La expresión superficial aumenta cuando los queratinocitos son tratados con $TNF\alpha$ e $IFN-\gamma$ ¹⁴².

Estudios de inmunocitoquímica muestran que TLR3 se puede ubicar en la región centrosomal. El tratamiento con poli (I: C) estimula la síntesis de IL-6 y la producción de TNF en ratón y células epiteliales humanas. Por otra parte en células dendríticas de ratón y humanas la expresión del receptor TLR3 aumenta por infección viral, por la adición exógena de poly (I: C) o por el tratamiento con interferon γ .

La expresión de TLR3 en humanos y ratones se estimula por infección viral y la adición exógena de poly (I: C) o interferón tipo I¹³⁸. Y en células dendríticas la estimulación con dsRNA induce la redistribución del receptor del retículo endoplasmático al endosoma¹⁴³.

Células de la línea linfóide también expresan TLR3, las células T, las células T $\gamma\delta$ expresan intracelularmente al receptor TLR3. La expresión del receptor TLR3 es estimulada en células T $\gamma\delta$ después la unión células T¹⁴⁴.

Los macrófagos, al igual que los fibroblastos y células epiteliales lo expresan en la superficie¹⁴⁵. El patrón de expresión y la localización subcelular de receptor TLR3 se muestran en la tabla 5.

Tipo celular	Transcritos de TLR3	Proteína intracelular	Proteína en superficie.
Subtipos de células dendríticas			
MDDC	+	+	±
Humanas	+	+	-
Ratón	+	ND	ND
Ratón CD8 α	+	ND	ND
Otras células inmune			
Macrófagos	+	+	+
Células T $\gamma\delta$	+	+	Débil
Células NK	+	ND	ND
Células T	+	+	-
Mastocitos	+	+	+
Células no inmunes			
Fibroblastos humanos	+	+	+
Células epiteliales humanas	+	+	+
Queratinocitos	+	+	Débil
Células de la glía	+	+	+
Células neuronales	+	+	-

6.2 REGULACIÓN DEL RECEPTOR TLR3.

En condiciones fisiológicas TLR3 se asocia al RNA viral en endosomas, donde los virus entran a través del vía endocítica o por cuerpos apoptóticos derivados de células infectadas con partículas virales¹⁴⁶. Recientemente se ha reportado que células dendríticas infectadas con virus de la hepatitis C contiene dsRNA son capaces de inducir respuestas inmunes innatas y producción de IFN γ .

Los mecanismos mediante los cuales el dsRNA es liberado a organelos que contienen TLR3 no ha sido totalmente esclarecido. De manera sorprendente, las dimensiones de la estructura cristalográfica del

receptor TLR3 es similar en forma al dímero CD14¹⁴⁷. Lo que sugiere que tanto el TLR3 como TLR4 se pueden asociar con CD14. Algunos experimentos muestran evidencias que TLR3 y CD14 co-inmunoprecipitan y que intracelularmente se localizan ambas moléculas. Se han detectado en aparato de Golgi y retículo endoplasmático. CD14 se une a poly (I: C) y este complejo permite su captura celular. El dominio extracelular de CD14 contiene repeticiones ricas en leucina. Así mismo se ha demostrado que los inhibidores cloroquina y bafilomicina, que son inhibidores de la maduración lisosomal inhiben los efectos de poly (I:C), lo que sugiere que la señalización por TLR3 debe realizarse en compartimientos intracelulares y que se requiere de la maduración de endosomas.

Por otra parte, como poly (I: C) actúa al interior celular se requieren de tratamiento largos para promover la inducción de IFN en células dendríticas pero no en fibroblastos¹⁴⁸.

En células MDD el dsRNA se internaliza por vesículas de clatrina, por lo que células que son dominantes negativos para Eps15, crucial en la endocitosis, clatrina bloquea la activación del factor nuclear kB y la activación de IFN¹⁴⁹.

Después del reconcimimiento entre TLR3 y dsRNA el receptor es fosforilado en residuos de tirosina en el tallo citoplasmático, este evento es clave en la activación de señales intracelulares lo que contribuye a la activación del factor regulador a interferon (IFN) γ y la expresión de genes dependiente de NFkB¹⁵⁰.¹³

6.3. EVASIÓN VIRAL Y SUBVERSIÓN DEL PATRÓN DE RECONOCIMIENTO DEL RECEPTOR SEÑALADO.

Los virus son los más abundantes, diversos y rápidamente patógenos evolucionados que el anfitrión del sistema inmune es cambiado y por consiguiente representa una gran amenaza para la salud humana. Paradójicamente, los virus son obligatoriamente parásitos que dependen de la célula huésped y la supervivencia a lo largo de la evolución, ellos tienen que desarrollar estrategias para la evasión y subversión de la respuesta inmune, y usan las proteínas del huésped y conducen a la iniciación de la respuesta antiviral de la inmunidad innata, y los resultados de la inducción de expresión del tipo I de interferones (IFNs), IFN α y IFN β y citoquinas proinflamatorias. La importancia del tipo I de Interferones es directamente la respuesta antiviral que se caracterizan en detalles y validados in vivo. Por ejemplo los ratones que son deficientes del receptor tipo I de IFN

incrementa la susceptibilidad de muchos virus, en humanos con defectos genéticos en los componentes de señalización de IFN y la muerte de las infecciones virales.

Algunas de las importancias de IFN y las vías antivirales efectoras de los mecanismos del huésped que son directamente el objetivo del ciclo de vida viral y la amplia detección del huésped de los virus y producción de IFN. La influencia de la respuesta inmune innata, tipo 1 IFNs, directamente la respuesta inmune adaptativa por la ayuda de las células T y células T citotóxicas (CTLs) resultan en la inducción de la respuesta del antígeno específico. Hace 8 años, se supo que el mecanismo celular era usado en la detección de virus y la subsecuente producción de IFNs y citoquinas proinflamatorias. Ahora se sabe que los virus, son similares a las bacterias y hongos, inicialmente reconocidos por el huésped del patrón de reconocimiento de receptores, predicho por Janeway hace 20 años.

En corto tiempo, a lo largo del cuerpo de la investigación se ha acumulado y ahora proporciona un conocimiento de las bases moleculares de PRR, mediante el reconocimiento de los ácidos nucleicos virales y la subsecuente activación de las vías de señalamiento que conducen a la transcripción de genes y codifica citoquinas proinflamatorias e IFNs. Dos familias de PRRs que reconocen el ácido nucleico viral que se caracterizan con detalle. El primero es una subfamilia de receptores Toll-like (TLRs) que está hecho de TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9, expresado en los endosomas y algunos tipos de células.

La segunda familia de receptores que comprenden el ácido retinoico inducible del gen I (RIG-I)-like receptores (RLRs), que abarca RIG-I, la diferenciación del melanoma asociada al gen 5 (MDA5, también conocido como IFIH1) y laboratorio de genética y fisiología 2 (LGP2), que está en forma ubicua expresado en el citoplasma. (Fig.19).

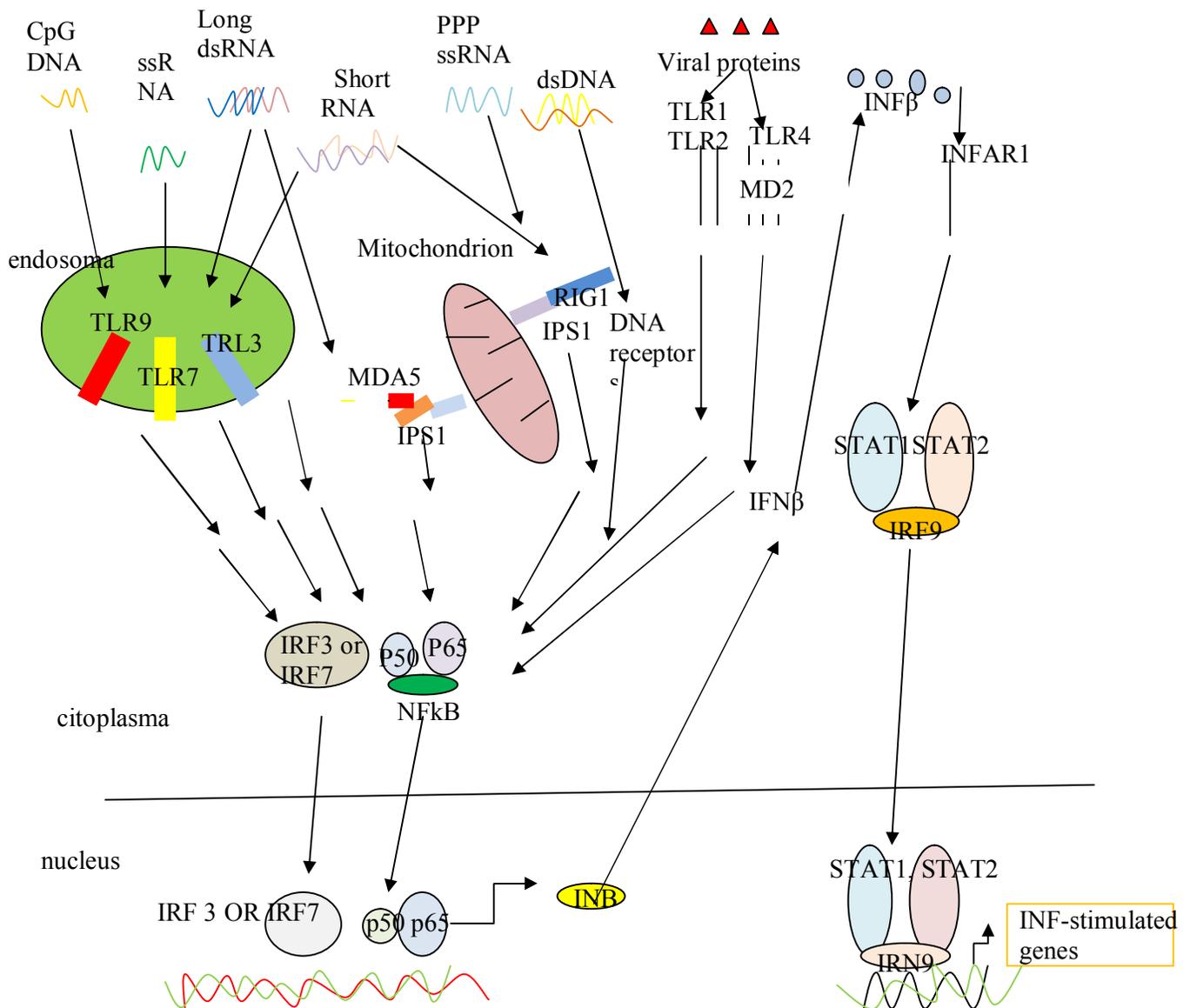


Figura 19 | La activación de la respuesta del interferón provocada por la detección de virus patógenos asociados patrones moleculares.

Todos los receptores de reconocimiento de patrones (RRP) inician las vías de señalización que convergen en la activación de factores de transcripción del factor regulador del interferón (IFN)-(IRF3), IRF7 y / o el factor nuclear-(NF-κB), lo que conduce a la expresión de IFNβ. IFN β entonces inicia un programa de efectos antivirales en la célula infectada y las células vecinas, lo que implica la expresión de numerosos genes estimulados en respuesta a IFN (ISGs). Algunos de los ISGs se muestra aquí, como RIG-I (gen inducible -ácido retinoico I), MDA5 (gen de diferenciación asociada al melanoma asociada a 5), DAI (activador del ADN-dependiente de la FRI), algunos microARNs y el MIC (tripartito motivo que contiene) la familia de proteínas, participan en la amplificación y regulación de la respuesta de IFN. ISGs Otros se muestran, como 2' 5' sintetasa oligoadenilato (OEA) y la ribonucleasa L (RNaseL), el IFN-inducible de la proteína quinasa dependiente de dsRNA (PKR), la resistencia myxovirus (Mx), proteínas, adenosina deaminasa ARN específico (ADAR) y la apolipoproteína B mRNA de la enzima de escisión, polipéptido catalítico 3 (APOBEC3), están involucrados en los mecanismos antivirales que interfieren con el ciclo de vida de virus individuales. OEA y PKR son más activadas por ARN de doble cadena (dsRNA). IFNAR1, del receptor de interferón-α; estimulador IPS1, IFNβ-promotor 1; ISG15, IFN-estimulando la proteína de 15 kDa, MD2, mieloides de diferenciación de las proteínas 2; PPP, 5' trifosfato; ssARN, de cadena simple de ARN, STAT, transductor de la señal y activador de la transcripción; TLR, Toll-like receptor. Fuente: viral evasión and subversión of pattern-recognition receptor signalling.

El ácido nucleico viral (RNA y DNA) es el más importante patógeno asociado a patrones moleculares (PAMP) que es reconocido por el huésped y es ahora un excelente acuerdo del ácido nucleico viral y la activación de PRRs y el nivel molecular^{151,152}.

Además el aspecto fundamental de las vías de señalización del PRR y los componentes que están involucrados, también han sido bien caracterizados^{153,154}.

La fase efectora del IFN en la respuesta antiviral es antagonizada por virus, con la más reciente identificación de virus de PRRs que conducen a la inducción de IFN, el mecanismo por la evasión de los virus de los principales eventos de las vías de señalización PRR que conducen aparentemente. Ahora la infección, los virus, pueden inducir al complejo intracelular y afectar muchos componentes de las vías de señalización del huésped.

Los efectos de los virus de la defensa del huésped no sólo inhibe la detección viral, los virus son manipulados por las vías de señalización por su propio beneficio.

La activación de ciertos PRR por un virus produce en el huésped una respuesta inmune o el mecanismo que es usado por los virus ayuda en la replicación y propagación debido al señalamiento inmune por lo tanto los virus y el huésped, de diferentes virus activan algunos PRR positivo o negativo en la progresión de enfermedades y respuesta inmune.

Las estrategias son usadas por los virus para la inhibición y la manipulación de la respuesta del huésped es importante por dos razones.

Primero, contribuye a la comprensión de patogénesis viral. Los virus (especialmente virus RNA9 mutan muy rápidamente, la identificación de las mutaciones incrementan o decrecen la actividad de la proteína viral y los objetivos de la respuesta inmune ayuda a definir los factores de virulencia con diferentes causas o especies de virus que infectan humanos. Por ejemplo el virus Ebola, es usualmente y altamente virulento en humanos y desencadena la letal fiebre hemorrágica, que induce a la respuesta inmunitaria adaptativa en animales, (se requiere inmunidad innata para la detección de los virus por PRRs), en pacientes donde sucumbe la infección mientras que sobrevive la infección en la respuesta inmunitaria adaptativa¹⁵⁵.

Además, un virus mutante con sólo aminoácido cambia en la proteína del virus Ébola (VP35) que inhiben el señalamiento PRR, induce notablemente diferentes respuestas inmunitarias innatas en humanos. Las células viven en soledad dependiendo el tipo de virus¹⁵⁶.

Segundo, la manipulación del virus y la inhibición PRRs en la detección de vías comprende las funciones de las vías del huésped.

La información más importante para la comprensión del mecanismo por PRRs en la detección del virus en humanos para complementar la genética avanzada, se están usando en la investigación de mecanismos en ratones con PRR en la detección y la señalización¹⁵⁷.

6.3.1. TLRs Y VIRUS.

La función de los TLRs en la detección de virus. La identificación del TLR4 como la señalización del receptor por bacterias lipopolisacáridas fue una de los principales avances en el campo de investigación de la inmunidad innata.

La primer evidencia de los TLRs podría también responder a los virus que quieren encontrar que la fusión de la proteína del virus sincitial respiratorio (RSV) estimula la secreción de interleucina 6 (IL-6) de macrófagos de ratón, esto dependerá de la señalización TLR4¹⁵⁸. Además de que se descubrió que las proteínas del virus vaccinia (VACV) antagonizados por la señalización de TLR3 en las células cultivadas, con más apoyo en la función de los TLRs en la detección de virus¹⁵⁹.

En el 2001, el TLR3 fue identificado como PRR de virus RNA de doble cadena(dsRNA) basado en la observación de ratones deficientes en IFN- inducibles de dsRNA dependiente de la proteína quinasa en donde se ha respondido todavía al dsRNA imitando al polyinosinic- ácido polycytidylic (polyI:C)¹⁶⁰. Las células con polyI: C eran conocidas por imitar muchos aspectos de la infección viral, el TLR3 en espera tiene un amplio y crucial rol en inmunidad antiviral. La infección viral del huésped que es deficiente de TLR3 no altera la patogénesis viral o perjudica la respuesta inmunitaria del huésped de los virus¹⁶¹. El TLR3 es actualmente protector en algunos casos de infecciones virales. La importancia y el rol específico del TLR3 en la respuesta antiviral se ha demostrado, que está incluida en la respuesta del huésped contra ciertos virus^{162'163'164}.

El TLR3 es parte de un subconjunto de TLRs que se presentan en los endosomas y ácidos nucleicos.

Otros incluyen TLR7, TLR8 y TLR9, el TLR8 en humanos y TLR7 en ratones (TLR8 no es funcional en ratones) detecta sólo cadena de RNA (ssRNA) de virus RNA, incluyendo HIV- I, virus de estomatitis vesicular (VSV) y el virus de la influenza A, y la conducción de la inducción de expresión de IFN α ¹⁶⁵.

El sentido de TLR9 unmetilado CpG en los genomas DNA de los virus, tales como los virus de herpes simple (HSV), las induce a la producción del tipo I de IFNs por plasmacitoide de células dendríticas (pDCs)^{166,167}. TLR7 y TLR9 parece que tiene una función más importante que el TLR3 en la inmunidad antiviral, siendo responsable para la detección de virus por pDCs y su subsecuente producción del tipo I IFNs. De hecho, Akira y colegas, recientemente mostraron que el TLR, mediada por el reconocimiento del ssRNA del virus de coriomeningitis linfocítica (LCMV) en pDCs, conduce a la producción del tipo 1 IFNs y la subsecuente CTL respuesta in vivo¹⁶⁸.

6.3.2. LA EVASIÓN VIRAL DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE LOS TLR.

La acción de los PAMPs de tipo viral promueve la dimerización del receptor, seguido de la iniciación de la vía de señalización intracelular que culmina en la activación de los factores de transcripción NFkB, IRF3 e IRF7^{169,170}. La región citoplasmática de los TLRs, contiene receptores Toll/IL-1 (IL-IR) (TIR) de dominio, que es común en la familia IL-1R, y es esencial en la señalización que es mediada por TLRs y IL-1Rs¹⁷⁰. El receptor de dimerización desencadenante de interacciones homotípicas entre el receptor TIR de dominio y TIR de dominio que contiene proteínas adaptadoras que controlan la señalización de la actividad del TLRs, es decir, la diferenciación del mieloide en la respuesta primaria del gen 88 (MyD88), MyD88, adaptador como (MAL; también conocido como TIRAP), TIR de dominio que contiene el adaptador de proteína induciendo la IFN β (TRIF), TRIF relacionados con la molécula adaptadora (TRAM)¹⁷⁰. MyD88 es requerida por la señalización TLR de todos los ratones excepto TLR3, así como una señal de IL-1R¹⁷⁰, aunque la señal TLR a través de diferentes repertorios de TIR de dominio que contiene adaptadores. Por ejemplo, TLR2 requiere de señalización MyD88 y MAL, TLR3 necesita de señalización TRIF, TLR7 y TLR9 requiere señalización sólo MyD88¹⁷⁰. Los TLR inducen las vías de señalización que conducen al IRF3, IRF7 y NFkB la activación se expone en la Figura 20.

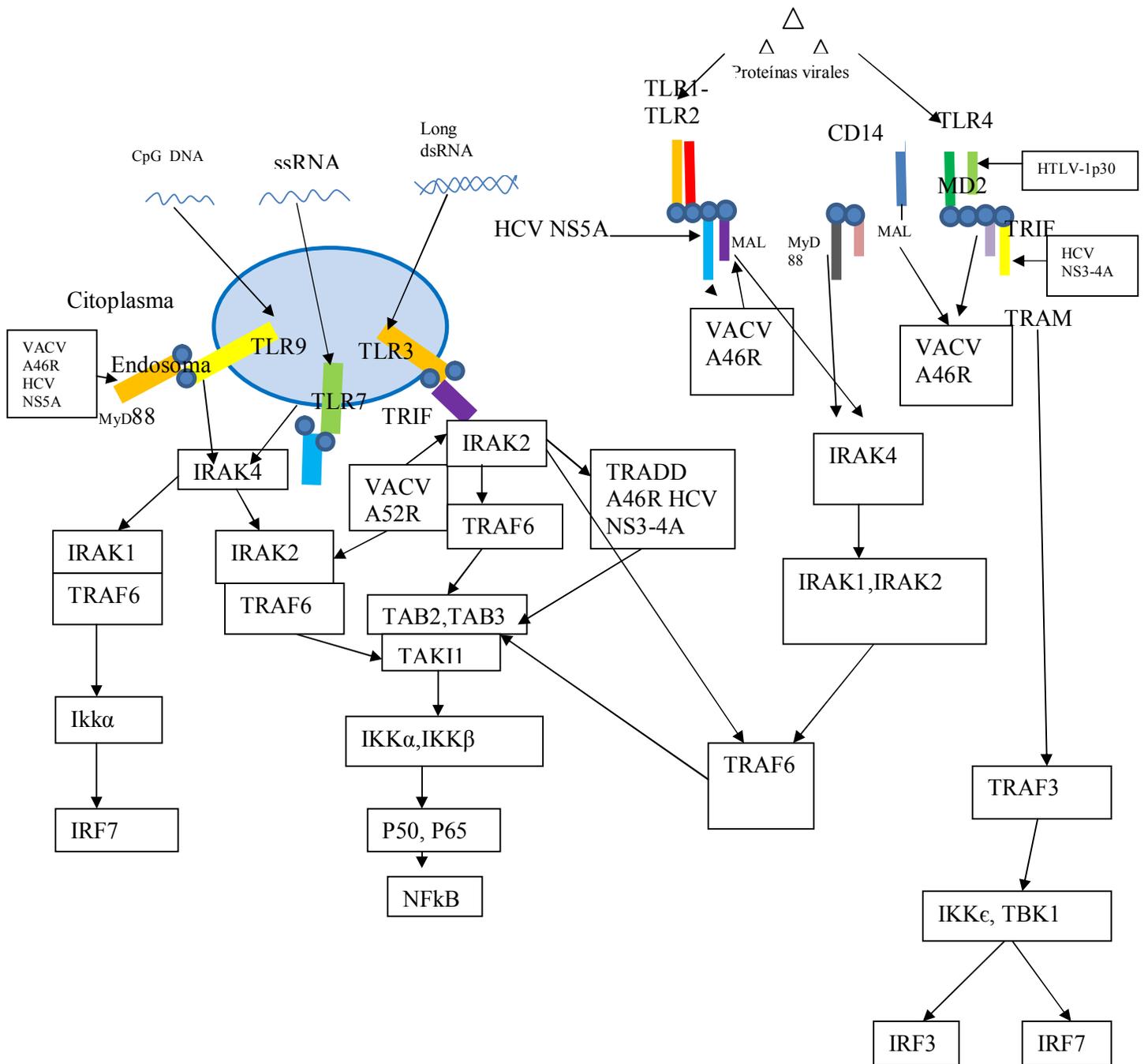


Fig. 20. La evasión viral de la señalización de los receptores Toll-like.

Después de la activación, los receptores tipo Toll (TLR) las proteína adaptadoras de diferenciación mieloides 88 (MyD88), el dominio TIR que contiene la proteína adaptadora que induce $\text{INF}\beta$ (TRIF), MyD88 adaptador similar (MAL) y TRIF relacionadas con la proteína adaptadora (TRAM), según lo indicado. Estos a continuación, inician las cascadas de señalización y participación de la IL-1R-cinasa asociada (IRAK) y el factor asociado a las proteínas TNFR (TRAF), lo que finalmente converge en la activación de los miembros de la familia I κ B quinasa (IKK) IKK α , IKK β , IKK ϵ y TBK1 (CISTERNA vinculante quinasa 1). El virus vaccinia (VACV) secuestra A46R proteína de ese adaptador de proteínas, mientras que el virus de la hepatitis C (VHC) se une selectivamente a la proteína NS5A MyD88 y rompe la proteasa VHC NS3-4A TRIF. La Leucemia humana de células T del virus tipo 1 (HTLV-1) de la proteína P30 actúa aún más contra la corriente mediante la reducción de la expresión de TLR4.VACV A52 e inhibe IRAK2, sin que ello afecte a varias vías que conducen a TLR factor nuclear κ B (NF κ B) de activación.

FUENTE: Viral evasion and subversion of pattern-recognition receptor signalling.

Algunos de los factores que están involucrados en el señalamiento del TLR se comparten con otras vías de señalización. Más específicamente, recientemente se ha demostrado que TRADD (del receptor INFR del factor de necrosis tumoral asociada a dominio a través de la muerte), requiere de las vías de señalización con la corriente del TNFR por TRIF y dependen de la señalización de TLR y para ambos RIG-I y MDA5 las vías de señalización^{171,172,173}. Este proporciona la oportunidad de interferencia entre los diferentes eventos de señalización de la inmunidad innata.

Muchos antagonistas virales de la señalización de TLR se han identificado (Fig. 19). Una de las primeras características de los inhibidores virales de las vías de señalización TLR fue el VACV proteína A46R, que se encontró para dirigirse más específicamente TIR de dominio que contiene proteínas adaptadoras VACV. Un gran virus dsDNA de la familia Poxviridae se sabe que para codificar muchos inhibidores de las vías de señalización de la inmunidad innata, tienen una no-redundante función independiente en virulencia^{174,175}. A46R contiene un TIR de dominio que permite la interacción con TIR de dominio que contiene complejos y para enlazar directamente al TIR de dominio que contiene adaptadores MyD88, MAL, TRIF y TRAM; por lo que puede inhibir la activación de NFκB y IRFs que es normalmente provocada por múltiples vías TLR¹⁷⁶. La afinidad de la interacción entre A46R y TIR de dominio que contiene adaptadores en una célula infectada puede ser suficiente para impedir el reclutamiento de adaptadores para TLRs y de tal modo inhiben la defensa del huésped, aunque esta teoría aún no ha recibido el apoyo experimental. Cuando el gen que codifica A46R se ha eliminado de VACV, el virus fue atenuado¹⁷⁶. De acuerdo con varias observaciones de TLRs se ha demostrado que participa en citoquina e IFN respuesta de infección poxvirus¹⁷⁵. Vale la pena señalar que A46R no interactúa con SARM, que es un regulador negativo de la señalización¹⁷⁷ TLR, y es por lo tanto favorable en el contexto de infección VACV. Aunque A46R es la única conocida TIR- de dominio que contiene proteína viral, proteínas bacterianas que contienen TIR de dominio, se han identificado y se ha encontrado que tienen función en la virulencia bacteriana^{178,179}, posiblemente usando mecanismos que son similares a los usados por A46R.

Sin embargo otro dominio no-TIR- que contiene la proteína viral nombrado el NS3-4 que es un heterodímero de ssRNA de flavovirus del virus hepatitis C (HCV) también se ha demostrado que usa una estrategia similar para desactivar el adaptador TIR de proteínas.

La actividad NS3-4 de serina proteasa, es esencial para la supervivencia de los virus y muchas funciones que evaden y subvierten las vías de señalización de los PRR.

Una función para unirse al precursor polipéptido de HCV genera la maduración de las estructuras de proteínas durante la replicación viral. Más trabajos muestran que el TRIF, también fue específicamente hendido por NS3-4 en 2 polipéptidos que no son activados de la transcripción dependiente de TLR promoviendo IFN β ¹⁸⁰.

La expresión de NS3-4 potencialmente decrece la polyI:C induciendo la actividad de la INFB promoviendo la polyI:C mediante la activación de NF κ B e IRF3 y la inducción de IRF3 dependiente de genes¹⁸⁰.

Por lo tanto el TRIF, HCV, inhibe al TLR3 mediante el señalamiento antiviral.

Aunque la importancia de TLR3 en la respuesta inmune de la infección de HCV, actualmente no está claro, ha indicado que TLR3 tiene funciones importantes en la respuesta antiviral de HCV. Además, recientemente se ha demostrado que cuatro diferentes proteínas HCV son expresados individualmente en macrófagos de células de ratón, y ellos inhiben TLR induciendo la producción de citoquina ¹⁸¹.

Otra proteína VACV, k A52R, específicamente apuntan a la IL-IR y el señalamiento de TLR y contribuyen a la virulencia¹⁸². AS2R interactúa con TNRF- asociada a quinasa 2 (IRAK2), dos moléculas señaladas en la en la asociación al domino TIR que contiene adaptadores y es un inhibidor efectivo para la activación de NF κ B¹⁸².

Aunque TRAF6 se sabe que tiene una función central en el señalamiento de TLR conduce a la activación de NF κ B la función de la pseudoquinasa IRAK2 desconocidos.

Sorprendentemente se demostró que una versión mutante es más importante para la activación de NF κ B lo que previamente se aprecia y sin duda más importante que IRAK1 por algunas vías de señalización TLR.

Porque A52R a diferencia A46R, no tenía efecto en la inducción de TLR y activación IRF, esto sugiere que IRAK2 no está involucrado en la TLR-IRF, de hecho ahora se aprecia que IRAK1 tiene una función fundamental en la vía de señalización (Fig. 19), mientras que IRAK2 está involucrado en la activación de NF κ B, como lo confirman los estudios de ratones deficientes de IRAK2¹⁸³.

El estudio A52R es un claro ejemplo de que se puede aprender acerca de las vías de señalización PRR por investigar las estrategias de la evasión viral. Similar a la NS3-4, AS2R también ha evadido y subvertido muchas funciones de la señalización de PRR, y la capacidad

de la interacción con TRAF6 podría representar la subversión (lugar de evasión) de las vías TLR por VACV.

Además de VACV y HCV, otros virus que se dirigen a las vías de señalización a través de TLR incluidas las células T en humanos y el virus de leucemia tipo 1 (HTLV-1) y el virus del Nilo (WNV). HTLV1 regula la baja expresión en superficie del TLR4 en la célula huésped de través de la proteína viral p30, que se une a los deshabilitados factores de transcripción PU.1 (que es normalmente requerido por la expresión de TLR4)¹⁸⁴. Por el contrario, la proteína WNV no estructural, proteína 1 (NSI) inhibidores TLR3-la inducción mediada por la expresión de IFN β , mediante la prevención de la translocación de NF κ B e IRF3 del núcleo. Sin embargo en la actualidad claro si la inhibición que es mediada por NSI es específica para las vías de señalización de TLR3 o si también afecta la inducción de IFN β y otros PRRs.

Además, las proteínas virales con funciones conocidas (tales como NS5A) pueden tener un papel adicional, que ilustra la alta eficiencia con lo que los virus utilizan las proteínas de codificación de los recursos limitados.

6.3.3 RLRs Y VIRUS.

El reconocimiento del RNA viral por RIG-I y MDA5. El TLR7 y TLR9 son importantes para el reconocimiento del ácido nucleico viral en los endosomas de pDCs, pero la mayoría de otros tipos de células reconocen el RNA viral a través de RLRs, RIG-I y MDA5¹⁸⁵. RIG-1 y MDA5 están estrechamente relacionados con proteínas que contienen 2 aminas (N)- terminales - de dominios de contratación (CARD's), un ATPasa central y helicasa de dominio y un carboxilo (C) terminal con dominio regulador. El CARDs, RIG-I y MDA5, engancha la señalización del adaptador de la proteína estimuladora de IFN- β (IPS1, también conocido como CARDIF, VISA y MAVS) ¹⁸⁶.

IPS1 reside en el exterior de la membrana mitocondrial e interactúa con RIG-1 y MDA5 a través de CARD. Esta interacción proporciona el enlace entre el RLRs y la quinasa TANK- vinculante a la quinasa 1 (TBK1) y la quinasa I κ B- ϵ (IKK ϵ), que fosforila y activa IRF3 y IRF7. (Fig. 21).

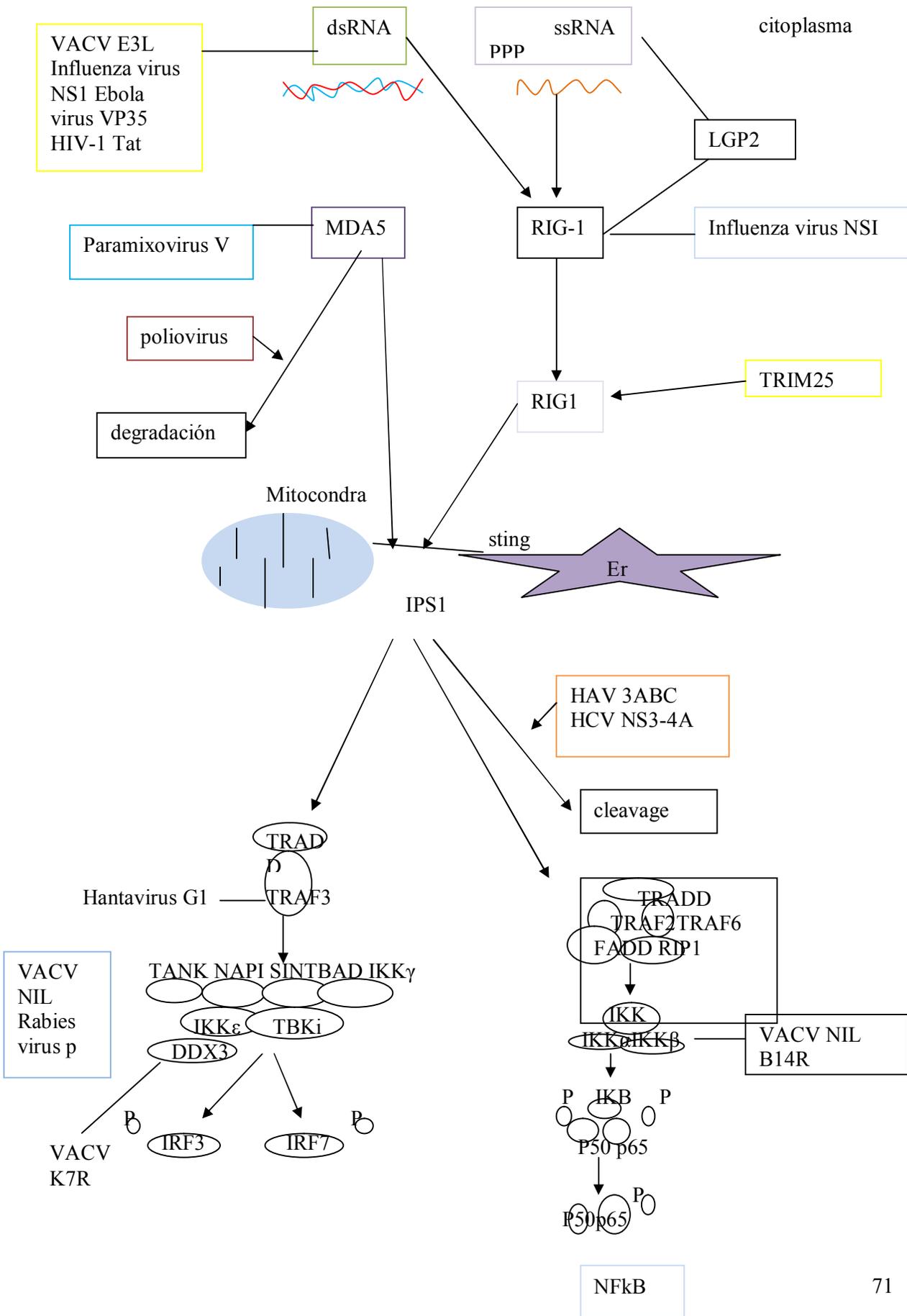


Fig. 21. La evasión viral de la señalización del receptor de ácido retinoico-inducible-gen-I. RIG-I (gen-ácido retinoico-inducible I) y MDA5 (melanoma asociado a la diferenciación gen 5), llamados receptores de RIG-I-like (RLRs), se activan por ARN citoplásmico durante la infección viral. La señal que usa estimulador IFN-promotor de un (IPS1), que está atado a la membrana mitocondrial. Cuando IPS1 conducen a la activación de los factores de IFN-regulador (FRs) y factor nuclear NF- κ B (NF κ B). Además, la señalización a través de RIG-I requiere el adaptador STING (estimulador de los genes IFN), que se encuentra en el retículo endoplasmático (ER). La señalización es inhibida por las proteínas virales que, obligan a RIG-I, MDA5 IPS1 o a su degradación. El I κ B quinasa (IKK) miembros de la familia también son un objetivo común para las proteínas virales. DDX3, proteína DEAD-box 3; dsRNA, ARN de doble cadena; FADD, FAS-asociadas a través de dominio de la muerte; VHA, la hepatitis A, el VHC, el virus de la hepatitis C, IFN, interferón, I κ B, inhibidor de NF κ B; LGP2, NAP1, NF κ B-activando la proteína quinasa asociada a 1; proteína NS1, no estructural 1; PPP, 5' γ trifosfato; RIP1 proteína, receptor de una interacción; SINTBAD, similar a la NAP1 TBK1 adaptador; ssARN, de cadena simple de ARN; TANK-TRAF-familia-miembros asociados NF κ B activador; TBK1, vinculante a quinasa 1; TNFR, el receptor del factor de necrosis tumoral; TRADD, TNFR-asociadas a través de dominio de la muerte; TRAF, factor asociado a TNFR; tripartita TRIM25, motivo que contienen 25; ub, ubiquitina; VACV, el virus vaccinia. Fuente: viral evasión and subversión of pattern-recognition receptor signalling.

Recientemente una proteína conocida como estimulador de genes IFN (STING) ha sido identificado como un factor adicional en la RIG-1 IPS1 complejo de señalización, pero no en el complejo que contiene MDA5¹⁸⁷. STING es localizado en el retículo endoplásmico, lo que sugiere que este compartimento intracelular que también participan en la señalización mediada por RIG-I.

Tanto RIG-I y MDA5 fueron originalmente a través del reconocimiento de los tipos similares del dsRNA viral. Recientemente, sin embargo, la naturaleza exacta de sus ligandos nucleicos se ha definido y demostrado que son distintos. La caracterización de los mecanismos que el virus de la influenza A de proteína 1 no estructural (NSD inhibe RIG-I mediante la detección de RNA viral reveló que el ligando principal por RIG-I es ssRNA, que tiene 5 trifosfatos, generados por muchas polimerasas RNA virales¹⁸⁸.

Aunque los 5 trifosfatos son necesarios y no son suficientes para la activación¹⁸⁹ de RIG-I, la composición de la secuencia de RNA también tiene un papel, en el RNAs viral que contiene 5 trifosfatos y una secuencia de poliuridina y riboadenina particularmente como activador potente de RIG-I¹⁸⁹.

RIG-I puede también se activa por fragmentos cortos de dsRNA, mientras que MDA5 es el principal receptor del citoplasma por más moléculas del RNAs¹⁹⁰ viral y por polyI:C. Por un lado, los virus que producen más cantidades de dsRNA durante su ciclo de vida tales como picornavirus, se detectan principalmente por MDA5. Por otro lado, la cadena negativa de los virus de RNA, tales como el virus de la influenza, que produce apenas niveles detectables de dsRNA, se detectan por RIG-I, como lo confirman estudios que usan ratones deficientes en RIG-I y MDA5. Endógenos RNAs no activan RIG-I o MDA5, ya que en general ssRNAs tienen 5 extremos que se protegen por una capa de metilguanosa (como en el caso de mRNAs y pequeños

núcleos de RNAs) o monofosfatos (como en el caso del RNAs ribosomal, tRNAs y micro RNAs). Además de células abundantes de RNAs, tales como tRNAs y RNAs, ampliamente modificado con bases inusuales, como pseudouridina, que previene la activación de RIG-I y MDA5^{191,192}.

6.3.4. Interferencia con RIG-I y señalización MDA5.

Aunque los RLRs son descubiertos menos de 5 años, muchos estudios reveló que los virus tienen receptores y su adaptador IPS1 directamente e inhibe su función y valida la importancia de su PRRs por el reconocimiento de la infección viral. El virus de la influenza A y la proteína NS1 se une a RIG-I-IPS1 complejo y señalamiento en bloques¹⁹³.

Análogamente las proteínas V y muchos paramixovirus interactúan con MDA5 e inhiben la función¹⁹⁴, y la inducción de poliovirus de la escisión de MDA5 por caspasas¹⁹⁵.

El adaptador IPS1 es también un evento común que ha sido observada durante la infección con varios virus. Más específicamente el precursor de la proteína proteasa 3ABC del virus de hepatitis A, desencadenantes de la degradación de IPS1 en la membrana mitocondrial, que interrumpe RIG-1 y MDA5, mediante la activación de IRF3¹⁹⁶. Además de los ataques TRIF, HCV usan proteasa NS3-4 para escindir la C terminal de dominio transmembrana por IPS1, causando la disociación de la membrana mitocondrial y es incapaz de la transducción de señales RLR. Estos estudios confirman que la hipótesis de IPS1 debe ser atada a la membrana mitocondrial a mediados de su función antiviral¹⁹⁷.

6.3.5. Inhibición viral del IRF3 e IRF7 y activación del nivel de IKKs.

La interacción de HCV y las proteínas multifuncionales NS3¹⁹⁸, o la VACV proteína NIL¹⁹⁹, con la inhibición de TBK1 y la activación del factor de transcripción. TBK1 es también inhibido por la fosfoproteína muy negativa de virus RNA, tales como el virus de la rabia y el virus de enfermedad Borna^{200,201}. Además, la proteína GI es un hantavirus patógeno que puede inhibir la función TBK1 y puede interrumpir al TRAF3-TBK1 interactuando con una requerida señalización.

En células con actividad, TBK1 es inhibida por IRF3 no fosforilada y no dimeriza o translocada en su núcleo. La dimerización y la traslocación nuclear de IRF3 es también inhibida por papaína proteasa (PLpro) del síndrome agudo respiratorio (SARS) asociado a coronavirus, que directamente interactúa²⁰².

Directamente la orientación de los IRFs.

Varios virus imitan al IRF viral e inhiben la señalización de IRF3 y IRF7 a través de varios mecanismos. (Figura 22).

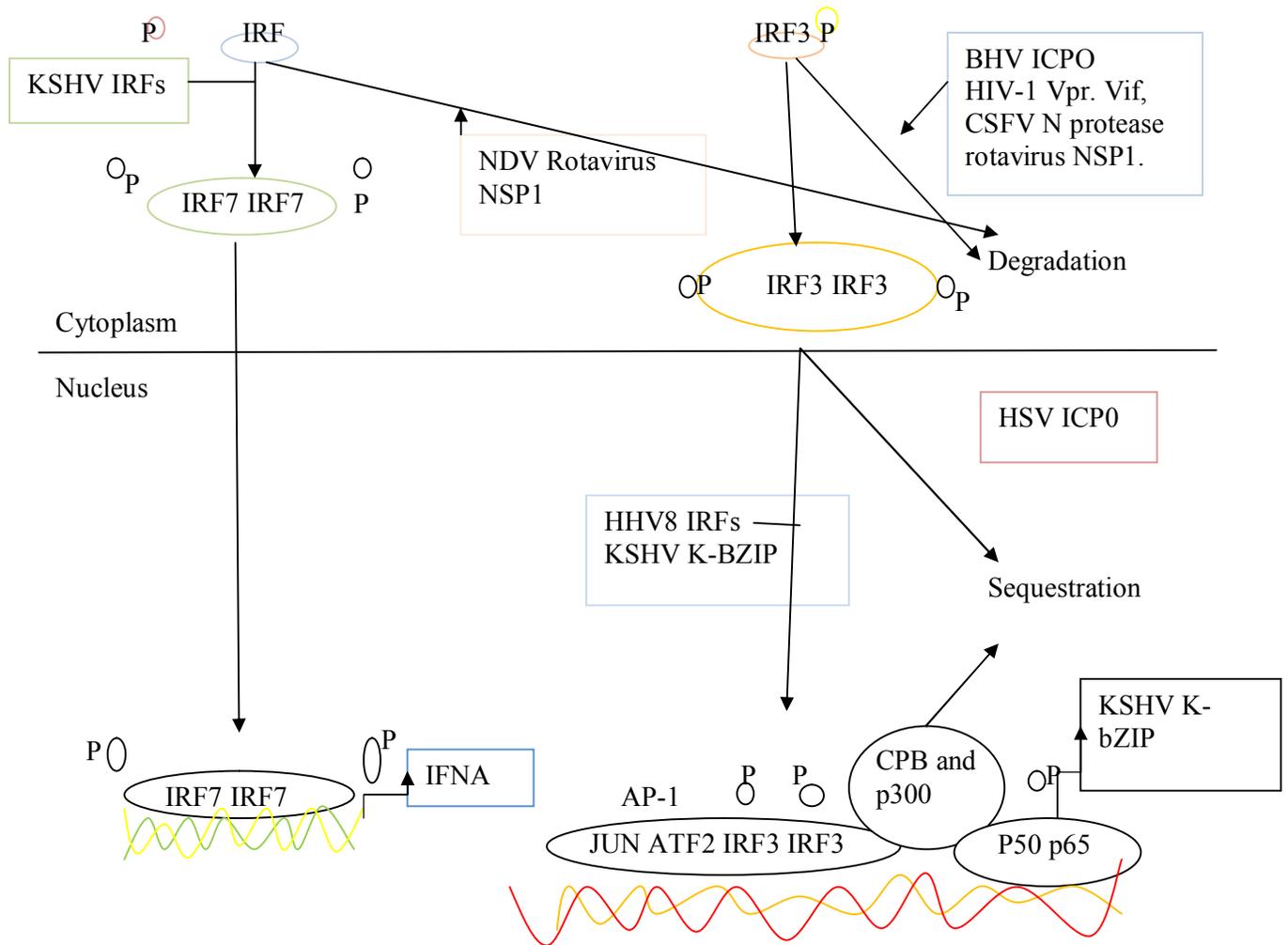


Fig.22. La inhibición del factor regulador de interferón-3 (IRF3) y IRF7 por virus proteínas.

IRF3 IRF7 y se activan por fosforilación, que se homodimeriza y translocan al núcleo, donde interactúan con sus compañeros activadores de CREB vinculante proteína (CBP) y P300 e inducir la expresión de genes como el interferón- α (IFNA) y IFN β . Los virus inhiben IFN induciendo su degradación, secuestrar o les compiten con ellos por la unión a secuencias del promotor. AP1, activador de la proteína 1; ATF2, factor activador de la transcripción 2, VHB, herpes virus bovino; CREB, cíclico-AMP responsive- elemento de unión a proteínas, peste porcina clásica, peste porcina clásica; HHV, humanos virus del herpes, HSV, virus del herpes simple; ICP0, proteína de la célula infectada 0; Newcastle, Newcastle virus de la enfermedad; NF κ B, el factor nuclear- κ B, proteínas NSP1, no estructural 1; HVS, de virus del herpes asociado al sarcoma de Kaposi. Fuente: viral evasión and subversión of pattern-recognition receptor signalling.

Durante la infección viral se expresan niveles de IRFs y dinámicamente se regulan por factores virales. Se sugirió una crucial función de IFN efector de la proteína ISG15 (IFN estimulando proteínas 15kDa), se contrarresta el virus mediante la proteólisis de IRF3 y ISG15 que se une covalentemente a IRF3 y pueden prevenir la ubiquitina mediante la degradación por enfermedad de virus Newcastle²⁰³.

6.3.6. MÁS ALLÁ DE LA INHIBICIÓN: SUBVERSIÓN VIRAL DE PRRs.

En contraste, ahora es claro que los virus pueden subvertir aspectos de PRR mediante la señalización además de la activación de NFκB y sus beneficios.

Los estudios de TLR3 en ratones que se infectan con WNV, virus de influenza A y VCV, se confirma que la ausencia de TLR3 actualmente favorece al huésped, lo que sugiere que estos virus podrían usar TLR3 mediante la diseminación de la inflamación y el establecimiento de la infección^{204,205,206,15}.

TLR3 es exclusivamente expresado por DC, un sistema heterogéneo de leucocitos altamente especializados en las respuestas inmunitarias dependientes de células T. El sello de DC es la de habilitar la captura de patógenos de orígenes distintos para procesar y presentar los péptidos antigénicos-y migran a través de los tejidos para llegar a los órganos linfoides secundarios, donde la estimulación de las células T vírgenes se lleva a cabo. Sobre la exposición a las señales inmunes o inflamatorias, DC se somete a la maduración funcional volviendo a entrar al sistema circulatorio a las áreas de células T de los órganos linfoides.

Dado su papel central en la conmutación de la inmunidad innata para adquirir respuestas inmunes, se analizó el patrón de expresión de TLRs en la madurez humana del precursor DC contra monocitos. Después la presencia de GM-CSF, IL-4, IL-13, precursor de los monocitos se diferencian en DC. Tras una exposición adicional a las señales inflamatorias, se someten a maduración funcional. TLR3 se expresa exclusivamente por la DC, pero está ausente en los monocitos precursores. Por otra parte, la expresión de TLR3 ha aumentado dramáticamente durante la diferenciación de las células in vitro. Por último, cuando DC fueron tratados con señales inflamatorias en plena madurez, la expresión TLR3 disminuyó significativamente, lo que representa un mecanismo de regulación después de DC donde se han encontrado los patógenos.¹⁷

CONCLUSIONES.

INF tipo I y IL-12, son moléculas claves en la defensa contra partículas virales. Por otra parte también se ha mostrado que p38 participa en la inducción de IL-12 por acción de NFkB.

A pesar de que se han realizado notables avances en el conocimiento de la señalización por TLR3, aún quedan un gran número de estudios por realizar, queda por determinar el papel fisiológico y los ligandos adecuados a fin de caracterizar la localización de estos receptores y sobre la señalización y expresión de genes.

El efecto potencial de la manipulación de los virus TLRs implica la estimulación selectiva de vías que conducen a la producción de IL-10, a citoquinas que son requeridas para la persistencia viral.

Actualmente los TLR3 nos protegen de algunas enfermedades virales, tiene un rol importante en la respuesta antiviral y nos defiende de ciertos virus.

7.- CITAS BIBLIOGRÁFICAS.

- 1.- Abbas A., Lichtman A., Inmunología celular y molecular, 6ta. Edición, Ed. Elsevier Saunders, 2008.
- 2.- Resino S., Inmunidad innata y Adaptativa (EMEI), 2009.
- 3.- Col. Wikipedia, Sistema Inmunitario, 2010.
- 4.- Col. Wikipedia, Sistema Inmunitario Innato, 2010.
- 5.- Moreno C., Sánchez- Ibarrola A., Receptores tipo Toll: Bases moleculares de la Relación entre respuestas innatas y adaptativas del Sistema inmunitario, 2003.
- 6.- Lozano J.M., Manzanares B., Tarazona R., Peña J., Sistema inmunocelular efector, 2010.
- 7.- Cocom-Góngora P., Mirza C., Mut M., García M., Los receptores de los linfocitos de la inmunidad innata, 2004.
- 8.- Castellanos R., Respuestas inmunes innata y adaptativa, 2000.
- 9.- Col. Wikipedia, Receptores de tipo Toll, 2010.
- 10.- Sepúlveda M., Cruz D., Velázquez N., Nava M., Santos J., Receptores tipo Toll, parte del reconocimiento en la respuesta innata. 2007.
11. - Ramos M., Kolliker- Frers., Label M., Receptores Toll-Like (TLRs), receptors tipo peaje, 2005.
- 12.- Guijaro C., Martín J., Blanco- Colio., Egido J., El factor transcripción – kB (NFkB), en la inflamación y ruptura de la placa ateromatosa, 2010.
13. - Gauzzi M., Corno M., Gesan S., Dissecting TLR3 signalling in dendritic cells, 2010.
- 14.- Choe J., Kelker M., Wilson A., Structure of human Toll-like Receptor 3 (TLR3) Ligand- binding domain, 2005.

- 15.- Andrew G., Bowie, Leoni U., Viral evasion and subversion of pattern- recognition receptor signaling, 2008.
- 16.- Fakuda K., Watanabe T., Tokisue T., Tsujita T., Nishikawa S., Hasegawa T., Seya T., Matsumoto M., Modulation of Double-stranded RNA recognition by the N-terminal Histidine-rich Region of the Human Toll-like Receptor 3, 2008.
- 17.- Muzio M., Bosisio D., Polentarutti N., Differential Expression and regulation of toll-Like Receptors (TLR) in human Leukocytes: Selective Expression of TLR3 in Dendritic Cells., 2000.
- 18.- Martínez Z., Calzadilla F., Artiles A., Papel de los polimorfismos genéticos de los receptores de peaje (Toll-R) en la enfermedad y en el trasplante, 2009.
- 19.- Castro M., Forero E., Los receptores tipo Toll y su papel en la patogénesis de las enfermedades inflamatorias, 2004.
- 20.- Herrera M., Gajardo P., Bedoya J. González C., Rol de los receptores tipo Toll en la patogénesis de la rinitis alérgica, 2010.
21. - Pancer Z, Cooper M. «The evolution of adaptive immunity». *Annu Rev Immunol* 24: pp. 497-518.
22. Janeway CA, Jr. *et al* (2005). *Immunobiology*. (6th ed. edición). Garland Science.
- 23.-Holtmeier W, Kabelitz D. «gammadelta T cells link innate and adaptive immune responses». *Chem Immunol Allergy* 86: pp. 151-83.
24. - Harty J., Tvinnereim A, White D. «CD8+ T cell effector mechanisms in resistance to infection». *Annu Rev Immunol* 18: pp. 275-308.
25. - Radoja S, Frey A, Vukmanovic S (2006). «T-cell receptor signaling events triggering granule exocytosis». *Crit Rev Immunol* 26 (3): pp. 265-90.
26. - Abbas A., Murphy K., Sher A. (1996). «Functional diversity of helper T lymphocytes». *Nature* 383 (6603): pp. 787–93.

27. - McHeyzer-Williams L., Malherbe L., McHeyzer-Williams M., (2006). «Helper T cell-regulated B cell immunity». *Curr Top Microbiol Immunol* 311: pp. 59–83.
- 28.- Kovacs B., Maus M., Riley J., Derimanov G, Koretzky G, June C, Finkel T (2002). «Human CD8+ T cells do not require the polarization of lipid rafts for activation and proliferation». *Proc Natl Acad Sci U S A* 99 (23): pp. 15006–11.
29. - Alberts, Bruce. Alexander Johnson., Julian Lewis., Martin Raff., Keith Roberts, and Peter Walters (2002). *Molecular Biology of the Cell; Fourth Edition*. New York and London: Garland Science.
30. - Grewal I, Flavell R (1998). «CD40 and CD154 in cell-mediated immunity». *Annu Rev Immunol* 16: pp. 111–35.
31. – Takeda K., Akira S. TLR signaling pathways. *Semin Immunol* 2004; 16(1): 3-9.
- 32.- Muzio L., Bosisio D., Plentarutti N., et al., Differential expression and regulation of toll like receptors (TLR) in human leukocytes: selective expression of TLR3 in dendritic cells. *J Immunol* 2000.
33. - Basu S., Fenton MJ., Toll-like receptors: function and roles in lung disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286(5): L887-92.
34. - Ramanathan M., JR., Lane AP. Innate immunity of the sinonasal cavity and its role in chronic rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 136(3): 348-56.
35. - Alberts, Bruce; Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walters (2002). *Molecular Biology of the Cell; Fourth Edition*. New York and London: Garland Science.
36. Janeway, Charles; Paul Travers, Mark Walport, and Mark Shlomchik (2001). *Immunobiology; Fifth Edition*. New York and London: Garland Science.
37. - Stvrtinová, Viera; Ján Jakubovský and Ivan Hulín (1995). *Inflammation and Fever from Pathophysiology: Principles of Disease*. Computing Centre, Slovak Academy of Sciences: Academic Electronic Press.

38. - Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature*. 2007.
39. - Akira S. Toll-like receptor signaling. *J Biol Chem*. 2003; 278: 38105-8.
40. - Shortman, K., Naik, S.H., 2007. Steady-state and inflammatory dendritic-cell development. *Nat. Rev. Immunol.* 7, 19–30.
41. - Borregaard N., Elsbach P., Ganz T., Garred P., Svejgaard A., Innate immunity: from plants to humans. *Immunol Today* 2000; 21:68-70.
- 42.- López-Botet M, Bellón T. Natural killer cell activation and inhibition by receptors for MHC class I. *Curr Opin Immunol* 1999.
- 43.- Mandelboim O., Malik P., Davis D., Jo C., Boyson J., Strominger J. Human CD16 as lysis receptor mediating direct natural killer cell cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999.
44. - Long E, Wagtmann N. Natural killer cell receptors. *Curr Opin Immunol* 1997.
45. - Lanier L., NK cell receptors. *Annu Rev Immunol* 1998.
46. - Lanier L.L., Corliss B.C., Wu J., Leong C., Phillips J., Immunoreceptor DAP-12 bearing a tyrosine-based activation motif is involved in activating NK cells. *Nature* 1998.
47. - Lanier LL. Natural killer cell receptor signalling. *Curr Opin Immunol* 2003.
48. - Dohring C, Colonna M. Human natural killer cell inhibitory receptors bind to HLA class I molecules. *Eur J Immunol* 1996.
49. - Gobel T.W., Cehn CH. Avian natural killer cells. *Curr Top Microbiol Immunol* 1996.
50. - Seaman W.E. Natural killer and natural killer T cells. *Arthritis Rheum* 2000.

52. - Jawahar S., Moody C., Chan M., Finberg R., Geha R., Chatila T. Natural killer (NK) cell deficiency associated with an epitope deficient Fcγ receptor type IIIA (CD16-II). *Clin Exp Immunol* 1996.
- 53.- Moretta A., Bottino C., Vitale M., Pende D., Biassoni R. and Mingari M., Receptors for HLA Class-I molecules in human natural killer cells. *Annu Rev Immunol* 1996.
54. - Robertson M., Ritz J., Biology and clinical relevance of human natural killer cells., *Blood* 1990.
- 55.- Mandelboim O., Manlike P., Davis D., Jo C., Boyson J., Strominger J., Human CD16 as lysis receptor mediating direct natural killer cell cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999.
56. - Backman-Peterson E., Miller J.R., Hollyoake M., Aguado B., Butcher GW., Molecular characterization of the novel rat NK receptor 1C7. *Eur J. Immunol* 2003.
57. - Azuma M., Cayabyab M., Buck D., Phillips J.H., Lanier L.L. Involvement of CD28 in mayor histocompatibility complexun restricted cytotoxicity mediated by human NK leukemia cell line. *J. Immunol* 1992.
- 58.- Yeh K.Y., Pulaski B.A., Woods M.L., McAdam A.J., Gaspari A.A., Frelinger J.G., *et. al.* B7-1 enhances natural killer cell mediated cytotoxicity and inhibits tumor growth of a poorly immunogenic murine carcinoma. *Cell Immunol* 1995.
59. - Brittenden J., Heys S., Ross J., Eremin O., Natural killer and cancer. *Cancer* 1996.
- 60.- Brown M., Boles K., Van Der Merwe P., Kumar V., Mathew P., Barclay N., The natural killer and T cell immunoglobulin superfamily surface protein, is a ligand for CD48. *J Exp Med* 1998.
61. - Colonna M. Unmasking the killer's accomplice. *Nature* 1998.
62. - Kronenberg M., Brossay L., Kurepa Z., Forman J., Conserved lipid peptide presentacion functions of non classical class I molecules. *Immunol Today* 1999.

63. - Raulet D. Recognition events that inhibit and activate natural killer cells. *Curr Opin Immunol* 1996.
64. - Rajagopalan S, Long E. A human histocompatibility leukocyte antigen (HLA) G-specific receptor expressed on all natural killer cells. *J Exp Med* 1999.
65. - Sun P. Structure and function of Natural-killer cell receptors. *Immunol Res* 2003.
66. - Parham P. Events in the adaption of natural killer cell receptors to MHC class I polymorphisms. *Immunol Res* 1997.
67. - Stewart C.A., Van Bergen J., Trowsdale J., Different and Divergent regulation of the KIR2DL4 and KIR3DL1 promoters. *J. Immunol* 2003.
68. - Lanier L., Natural killer cell receptors and MHC class I interactions. *Curr Opin Immunol* 1997.
69. - Davis D., Chiu I., Fassett M., Cohen G., Mandelboim O., The human natural killer cell immune synapse. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999.
70. - Ponte M., Cantón C., Biassoni R., Tradori-Cappai A., Bentivoglio G., Vitale C., *et al.*, Inhibitory receptors sensing HLA-G1 molecules in pregnancy: Decidua-associated natural killer cells express LIR-1 and CD94/NKG2 and acquire p49, an HLA G1 specific receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999.
- 71.- Valés-Gómez M., Reyburn H., Erskine R., Strominger J., Differential binding to HLA-C of p50 activating and p58 inhibitory natural killer cell receptor., *Proc Natl Acad Sci USA* 1998.
72. - Colonna M., Immunoglobulin super family inhibitory receptors: from natural killer cells o antigen-presenting cells. *Res Immunol* 1997.
- 73.- Bruhns P., Marchetti P., Fridman W.H., Vivier E., Daeron M., Differential roles of N- and C-terminal immune receptor tyrosine-based inhibition motifs during inhibition of cell activation by killer cell inhibitory receptors. *J. Immunol* 1999.
74. - Gumperz J., Parham P., The enigma of the natural killer cell. *Nature* 1995.

76. - Lian R., Li Y., Kubota S., Manger D., Takei F., Recognition of class I MHC by NK receptor Ly49C: identification of critical residues. J. Immunol 1999.
77. - Kase A., Johansson M., Olsson-Alheim M., Karre K., Hoglund P., External and internal calibration of the MHC class I specific receptor Ly49A on murine natural killer cells. J. Immunol 1998.
- 78.- George T., Mason L., Ortaldo J., Vinay K., Bennett M., Positive recognition of MHC class I molecules by the Ly49D receptor of murine NK cells. J. Immunol 1999.
79. - Brown M., Scalzo A., Matsumoto K., Wayne Y., The natural killer gene complex: a genetic basis for understanding natural killer cell function and innate immunity. Immunol Rev 1997.
80. - Nakamura M., Linnemeyer P., Niemi E., Llewellyn M., Ortaldo J., Ryan J. Mouse LY-49D Recognizes H-2Dd and activates Natural killer cell cytotoxicity. J Exp Med 1999.
- 81.- Indris' A., Smith H., Mason L., Ortaldo J., Scalzo A., Yokoyama W., The natural killer gene complex genetic locus *Chock* encodes Ly-49D, a target recognition receptor that activates natural killing. Proc Natl Acad Sci USA 1999.
82. - Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A. Jr., A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. Nature. 1997.
83. - Misch E.A., Hawn T.R., Toll-like receptor polymorphisms and susceptibility to human disease. Clin Sci. 2008.
84. - Jones B.W., Heldwein K.A., Means T.K., Saukkonen J.J., Fenton M.J. , Differential roles of Toll-like receptors in the elicitation of proinflammatory responses by macrophages. Ann Rheum Dis 2001.
85. - Vercammen E., Staal J., Beyaert R., Sensing of viral infection and activation of innate immunity by toll-like receptor 3. Clin Microbiol Rev 2008.

86. - Akira S., Uematsu S., Takeuchi O., Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006.
87. - Kulka M., Alexopoulou L., Flavell R.A., Metcalfe D.D., Activation of mast cells by double stranded RNA: evidence for activation through Toll-like receptor 3. *J. Allergy Clin Immunol* 2004.
88. - Alexopoulou, L., Holt, A. C., Medzhitov, R., and Flavell, R. A. (2001) *Nature*.
89. - Oshiumi H., Matsumoto M., Funami K., Akazawa T., and Seya, T. (2003) *Nat. Immunol.* 4, 161–167.
90. - . Yamamoto M., Sato S., Mori K., Hoshino K., Takeuchi O., Takeda K., and Akira S., (2002) *J. Immunol.* 169, 6668–6672.
91. - Akira S., Uematsu S., and Takeuchi O. (2006) *Cell* 124, 783–801.
92. - Matsumoto M., Kikkawa S., Kohase M., Miyake K., and Seya T. (2002) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 293, 1364–1369.
93. - Schroder M., and Bowie A. G. (2005) *Trends Immunol.* 26, 462–468.
94. - Adachi K., Tsutsui H., Kashiwamura S., Seki E., Nakano H., Takeuchi O., 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.
95. - Uematsu S., Akira S., Toll-like receptors and innate immunity, *J.Mol Med.* 2006.
96. - Akira S., Uematsu S., Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell.* 2006.
- 97.- Beutler B., Eidenschenk C., Crozat K., Imler J.L., Takeuchi O., Hoffmann JA, et al. Genetic analysis of resistance to viral infection. *Nat Rev Immunol.* 2007.

- 98.- Yamamoto M., Sato S., Hemmi H., Banjo H., Uematsu S., Kaisho T., et al., Essential role for TIRAP in activation of the signalling cascade shared by TLR2 and TLR4. *Nature*. 2002.
- 99.- Yamamoto M., Sato S., Hemmi H., Hoshino K., Raizó T., Sanjo H., et al. Role of adaptor TRIF in the MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway. *Science*. 2003.
100. - Akira S. Toll-like receptor signaling. *J. Biol Chem*. 2003.
101. - Medzhitov R., Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature*. 2007.
102. - Hiscott J., Nguyen T. L., Arguello M., Nakhaei P. & Paz, S. Manipulation of the nuclear factor- κ B pathway and the innate immune response by viruses. *Oncogene* **25**, 6844–6867 (2006).
- 103.- Seibl R., Birchler T., Loeliger S., Peter-Hossle J., Gay R.E., Saurenmann T. et al., Expression and Regulation of Toll-Like Receptor 2 in Rheumatoid Arthritis Synovium. *American Journal of Pathology* 2003.
104. - Zhang G., Ghosh S., Toll-like receptor–mediated NF- κ B activation: a phylogenetically conserved paradigm in innate immunity. *Clin Invest*, January 2001.
105. - Adams M., Annaba H., Jasani B., Man S., Fiander A., Evans, A.S., Donninger C., Mason, M., 2003. Dendritic cell (DC) based therapy for cervical cancer: use of DC pulsed with tumour lysate and matured with a novel synthetic clinically non-toxic double stranded RNA analogue poly [I]: poly[C (12) U] (Ampligen R).
106. – Trakatelli M., Toungouz M., Blocklet D., Dodoo Y., Gordower, L., Laporte M., Vereecken P., Sales F., Mortier L., Mazouz N., Lambermont M., Goldman S., Coulie P., Goldman M., Velu T., 2006. A new dendritic cell vaccine generated with interleukin-3 and interferon-beta induces CD8+ T cell responses against NA17-A2 tumor peptide in melanoma patients. *Cancer Immunol. Immunother.* 55, 469–474.
107. - Alexopoulou L., Hol, A.C., Medzhitov R., Flavell R.A., 2001. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF- κ B by toll-like receptor 3. *Nature* 413, 732–738.

108. - Jacobs, B.L., Langland, J.O., 1996. When two strands are better than one: the mediators and modulators of the cellular responses to double-stranded RNA. *Virology* 219, 339–349.
109. - Unterholzner L., Bowie, A.G., 2008. The interplay between viruses and innate immune signaling: recent insights and therapeutic opportunities. *Biochem Pharmacol.* 75, 589–602.
110. - Kawai T., Akira S., 2006. Innate immune recognition of viral infection. *Nat. Immunol.* 7, 131–137.
111. - Kariko K., Ni H., Capodici J., Lamphier M., Weissman D., 2004. mRNA is an endogenous ligand for toll-like receptor 3. *J. Biol. Chem.* 279, 12542–12550.
112. - Marshall-Clarke S., Downes, J.E., Haga I.R., Bowie A.G., Borrow P., Pennock J.L., Grenicis R.K., Rothwell P., 2007. Polyinosinic acid is a ligand for toll-like receptor 3. *J. Biol. Chem.* 282, 24759–24766.
113. - Okahira S., Nishikawa F., Nishikawa S., Akazawa T., Seya T., Matsumoto M., 2005. Interferon-beta induction through toll-like receptor 3 depends on double-stranded RNA structure. *DNA Cell Biol.* 24, 614–623.
114. - Matsumoto M., Seya T., 2008. TLR3: interferon induction by double-stranded RNA including poly (I: C). *Adv. Drug Deliv. Rev.* 60, 805–812.
115. - Trumpfheller C., McCaskey M., Nchinda G., Longhi M.P., Mizenina O., Huang Y., Schlesinger S.J., Colonna M., Steinman R.M., 2008. The microbial mimic poly IC induces durable and protective CD4+ T cell immunity together with a dendritic cell targeted vaccine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*
- 116.- Oshiumi H., Matsumoto M., Funami K., Akazawa T., Seya T., 2003. TICAM-1, an adapter molecule that participates in toll-like receptor 3-mediated interferon- beta induction. *Nat. Immunol.* 4, 161–167.

117. - Lin R., Mamane Y., Hiscott J., 1999. Structural and functional analysis of interferon regulatory factor 3: localization of the transactivation and auto inhibitory domains. *Mol. Cell. Biol.* 19, 2465–2474.
118. - Cusson-Hermance N., Khurana S., Lee T.H., Fitzgerald K.A., Kelliher M.A., 2005. Rip1 mediates the trif-dependent toll-like receptor 3- and 4-induced NF- κ B activation but does not contribute to interferon regulatory factor 3 activation. *J. Biol. Chem.* 280, 36560–36566.
119. - Shelia E., Karin M., 2002. AP-1 as a regulator of cell life and death. *Nat. Cell. Biol.* 4, E131–E136.
120. - Markel S.M., Strengell M., Pietila T.E., Osterlund P., Julkunen I., 2009. Multiple signaling pathways contribute to synergistic TLR ligand-dependent cytokine gene expression in human monocyte-derived macrophages and dendritic cells. *J. Leukoc. Biol.* 85, 664–672.
121. - Napolitani G., Rinaldi A., Bertoni F., Sallusto F., Lanzavecchia A., 2005. Selected toll-like receptor agonist combinations synergistically trigger a T helper type 1-polarizing program in dendritic cells. *Nat. Immunol.* 6, 769–776.
- 122.- Yasutomi M., Ohshima Y., Omata N., Yamada A., Iwasaki H., Urasaki Y., Mayumi M., 2005. Erythromycin differentially inhibits lipopolysaccharide- or poly (I: C)-induced but not peptidoglycan-induced activation of human mono- cyte-derived dendritic cells. *J. Immunol.* 175, 8069–8076.
123. - Johnsen I.B., Nguyen T.T., Ringdal M., Tryggestad A.M., Bakke, O., Lien, E., Espevik T., Anthonsen M.W., 2006. Toll-like receptor 3 associates with c-*Src* tyrosine kinase on endosomes to initiate antiviral signaling. *Embo J.* 25, 3335–3346.
124. - Rock F.L., Hardiman G., Timans J.C., Kastelein R.A., Bazan J.F. A family of human receptors structurally related to *Drosophila* Toll. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998; 95(2):588-93.
125. - . Akira S., TLR signaling. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2006.
126. - Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Cell Death Differ.* 2006.

127. - Albiger B., Dahlberg S., Henriques-Normark B., Normark Role of the innate immune system in host defence against bacterial infections: focus on the Toll-like receptors. *J Intern Med.* 2007.
128. - Bell J.K., *et al.*, Leucine-rich repeats and pathogen recognition in Toll-like receptors. *Trends Immunol* **24**, 528-33 (2003).
129. - Alexopoulou L., Holt A.C., Medzhitov R., Flavell R.A., 2001. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappa B by toll-like receptor 3. *Nature* 413, 732–738.
- 130.- Thompson K.A., Strayer D.R., Salvato P.D., Thompson C.E., Klimas N., Molavi A., Hamill A.K., Zheng Z., Ventura, D., Carter, W.A., 1996. Results of a double- blind placebo-controlled study of the double-stranded RNA drug polyI: poly- C12U in the treatment of HIV infection. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 15, 580–587.
131. - Jin M.S., Lee J.O., 2008. Structures of the toll-like receptor family and its ligand complexes. *Immunity* 29, 182–191.
132. - Bell J.K., Botos I., Hall P.R., Askins J., Shiloach J., Davies D.R., Segal D.M., 2006. The molecular structure of the TLR3 extracellular domain. *J. Endotoxin. Res.* 12, 375–378.
133. - Bell J.K., Botos I., Hall P.R., Askins J., Shiloach J., Segal D.M., Davies, D.R., 2005. The molecular structure of the toll-like receptor 3 ligand-binding domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 10976–10980.
- 134.- Muzio M., Bosisio D., Polentarutti N., D'Amico G., Stoppacciaro A., Mancinelli R., van't Veer C., Penton-Rol G., Ruco, L.P., Allavena P., Mantovani, A., 2000. Differential expression and regulation of toll-like receptors (TLR) in human leukocytes: selective expression of TLR3 in dendritic cells. *J. Immunol.* 164, 5998–6004.
135. - Rock F.L., Hardiman G., Timans J.C., Kastelein R.A., Bazan J.F., 1998. A family of human receptors structurally related to *Drosophila* toll. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 588–593.

136. - Zarembek K.A., Godowski P.J., 2002. Tissue expression of human toll-like receptors and differential regulation of toll-like receptor mRNAs in leukocytes in response to microbes, their products, and cytokines. *J. Immunol.* 168, 554–561.
137. - Farina C., Krumbholz M., Giese T., Hartmann G., Aloisi F., Meinl E., 2005. Preferential expression and function of toll-like receptor 3 in human astrocytes. *J. Neuroimmunol.* 159, 12–19.
138. - Heinz S., Haehnel V., Karaghiosoff M., Schwarzfischer L., Muller M., Krause S.W., Rehli M., 2003. Species-specific regulation of toll-like receptor 3 genes in men and mice. *J. Biol. Chem.* 278, 21502–21509.
139. - Hornung V., Rothenfusser S., Britsch S., Krug A., Jahrsdorfer B., Giese T., Endres S., Hartmann G., 2002. Quantitative expression of toll-like receptor 1-10 mRNA in cellular subsets of human peripheral blood mononuclear cells and sensitivity to CpG oligodeoxynucleotides. *J. Immunol.* 168, 4531–4537.
140. - Lundberg A.M., Drexler S.K., Monaco C., Williams L.M., Sacre S.M., Feldman M., Foxwell B.M., 2007. Key differences in TLR3/poly I: C signaling and cytokine induction by human primary cells: a phenomenon absent from murine cell systems. *Blood* 110, 3245–3252.
141. - Orinska Z., Bulanova E., Budagian V., Metz M., Maurer M., Bulfone-Paus S., 2005. TLR3-induced activation of mast cells modulates CD8⁺ T-cell recruitment. *Blood.* 106, 978–987.
142. - Begon E., Michel L., Flageul B., Beaudoin I., Jean-Louis F., Bachelez H., Dubertret L., Musette P., 2007. Expression, subcellular localization and cytokinic modulation of toll-like receptors (TLRs) in normal human keratinocytes: TLR2 up-regulation in psoriatic skin. *Eur. J. Dermatol.* 17, 497–506
143. - Johnsen I.B., Nguyen T.T., Ringdal M., Tryggstad A.M., Bakke O., Lien E., Espevik T., Anthonsen M.W., 2006. Toll-like receptor 3 associates with c-Src tyrosine kinase on endosomes to initiate antiviral signaling. *Embo J.* 25, 3335–3346.
144. - Wesch D., Beetz S., Oberg H.H., Marget M., Krenkel K., Kabelitz D., 2006. Direct co stimulatory effect of TLR3 ligand poly (I: C) on human gamma delta T lymphocytes. *J. Immunol.* 176, 1348–1354.

145. - Lundberg A.M., Drexler S.K., Monaco C., Williams L.M., Sacre S.M., Feldmann M., Foxwell B.M., 2007. Key differences in TLR3/poly I: C signaling and cytokine induction by human primary cells: a phenomenon absent from murine cell systems. *Blood* 110, 3245–3252.
146. - Weber F., Wagner V., Rasmussen S.B., Hartmann, R., Paludan S.R., 2006. Double- stranded RNA is produced by positive-strand RNA viruses and DNA viruses but not in detectable amounts by negative-strand RNA viruses. *J. Virol.* 80, 5059–5064.
147. - Choe J., Kelker M.S., Wilson I.A., 2005. Crystal structure of human toll-like receptor 3 (TLR3) ectodomain. *Science* 309, 581–585.
- 148.- Matsumoto M., Funami K., Tanabe M., Oshiumi H., Shingai M., Seto Y., Yamamoto A., Seya T., 2003. Subcellular localization of toll-like receptor 3 in human dendritic cells. *J. Immunol.* 171, 3154–3162.
149. - Johnson J., Albarani V., Nguyen M., Goldman M., Willems F., Aksoy E., 2007. Protein kinase Calpha is involved in interferon regulatory factor 3 activation and type I interferon-beta synthesis. *J. Biol. Chem.* 282, 15022–15032.
150. - Sarkar S.N., Elco C.P., Peters K.L., Chattopadhyay S., Sen G.C., 2007. Two tyrosine residues of Toll-like receptor 3 trigger different steps of NF-kappa B activation. *J. Biol. Chem.* 282, 3423–3427.
151. - Jin M. S. & Lee J. O. Structures of TLR-ligand complexes. *Curr. Opin. Immunol.* **29**, 182–191 (2008).
152. - Saito T., & Gale M. Jr., Differential recognition of double stranded RNA by RIG-I-like receptors in antiviral immunity. *J. Exp. Med.* **205**, 1523–1527 (2008).
153. - Takeuchi O., & Akira S., MDA5/RIG-I and virus recognition. *Curr. Opin. Immunol.* 20, 17–22 (2008).
154. - O'Neill L. A., when signaling pathways collide: positive and negative regulation of toll-like receptor signal transduction. *Immunity* 29, 12–20 (2008).

155. - Zampieri C. A., Sullivan N. J. & Nabel G. J. Immunopathology of highly virulent pathogens: insights from Ebola virus. *Nature Immunol.* **8**, 1159–1164 (2007).
156. - Whole-genome expression profiling reveals that inhibition of host innate immune response pathways by Ebola virus can be reversed by a single amino acid change in the VP35 protein. *J. Virol.* **82**, 5348–5358 (2008).
157. - Beutler B., *et al.* Genetic analysis of resistance to viral infection. *Nature Rev. Immunol.* **7**, 753–766(2007).
158. - Kurt-Jones E. A., *et al.*, Pattern recognition receptors TLR4 and CD14 mediate response to respiratory syncytial virus. *Nature Immunol.* **1**, 398–401 (2000).
159. - Bowie A., *et al.*, A46R and A52R from vaccinia virus are antagonists of host IL-1 and toll-like receptor signaling. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **97**, 10162–10167 (2000). This is the first demonstration of viral proteins that inhibit TLRs.
- 160.- Alexopoulou L., Holt A. C., Medzhitov R., & Flavell R. A., Recognition of double-stranded RNA and activation of NF- κ B by Toll-like receptor 3. *Nature* **413**, 732–738 (2001).
161. - Edelman K. H., *et al.*, Does Toll-like receptor 3 play a biological role in virus infections? *Virology* **322**, 231–238 (2004).
162. - Schroder M., & Bowie A. G., TLR3 in antiviral immunity: key player or bystander? *Trends Immunol.* **26**, 462–468 (2005).
163. - Vercammen E., Staal J. & Beyaert R. Sensing of viral infection and activation of innate immunity by Toll-like receptor 3. *Clin. Microbiol Rev.* **21**, 13–25 (2008).
164. - Quintana-Murci L., Alcais A., Abel L. & Casanova J.-L. Immunology in natura: clinical, epidemiological and evolutionary genetics of infectious diseases. *Nature Immunol.* **8**, 1165–1171 (2007).

165. - Bowie A. G., Translational mini-review series on Toll like receptors: recent advances in understanding the role of Toll-like receptors in anti-viral immunity. *Clin. Exp. Immunol.* **147**, 217–226 (2007).
- 166.- Lund J., Sato A., Akira S., Medzhitov R., & Iwasaki A., Toll-like receptor 9-mediated recognition of herpes simplex virus-2 by plasmacytoid dendritic cells. *J. Exp. Med.* **198**, 513–520 (2003).
167. - Krug A., *et al.*, Herpes simplex virus type 1 activates murine natural interferon-producing cells through toll like receptor 9. *Blood* **103**, 1433–1437 (2004).
168. - Jung A., *et al.*, Lymphocytoid choriomeningitis virus activates plasmacytoid dendritic cells and induces a cytotoxic T-cell response via MyD88. *J. Virol.* **82**, 196–206 (2008).
169. - O'Neill L. A., When signaling pathways collide: positive and negative regulation of toll-like receptor signal transduction. *Immunity* **29**, 12–20 (2008).
170. - O'Neill L. A., & Bowie, A. G. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nature Rev. Immunol.* **7**, 353–364 (2007).
171. - Pobezińska Y. L., *et al.*, The function of TRADD in signaling through tumor necrosis factor receptor 1 and TRIF-dependent Toll-like receptors. *Nature Immunol.* **9**, 1047–1054 (2008).
172. - Michallet, M. C. *et al.* TRADD protein is an essential component of the RIG-like helicase antiviral pathway. *Immunity* **28**, 651–661 (2008).
173. - Ermolaeva M. A., *et al.*, Function of TRADD in tumor necrosis factor receptor 1 signaling and in TRIF-dependent inflammatory responses. *Nature Immunol.* **9**, 1037–1046 (2008).
174. - Haga I. R., & Bowie A. G., Evasion of innate immunity by vaccinia virus. *Parasitology* **130**, S11–S25 (2005).
175. - Hurst, T. & Bowie, A. G. Innate immune signaling pathways: lessons from vaccinia virus. *Future Virol.* **3**, 147–156 (2008).

176. - Stack J., *et al.*, Vaccinia virus protein A46R targets multiple Toll-like–interleukin-1 receptor adaptors and contributes to virulence. *J. Exp. Med.* **201**, 1007–1018 (2005). This study shows that targeting of TIR-domain containing adaptors by a VACV protein contributes to virulence, which predicts that TLRs have a role in host responses against poxviruses.

177. - Carty M., *et al.*, The human adaptor SARM negatively regulates adaptor protein TRIF-dependent Toll-like receptor signaling. *Nature Immunol.* **7**, 1074–1081 (2006).

178. - Newman R. M., Salunkhe P., Godzik A., & Reed J. C., Identification and characterization of a novel bacterial virulence factor that shares homology with mammalian Toll/interleukin-1 receptor family proteins. *Infect. Immun.* **74**, 594–601 (2006).

179. - Cirl C., *et al.*, Subversion of Toll-like receptor signaling by a unique family of bacterial Toll/interleukin-1 receptor domain-containing proteins. *Nature Med.* **14**, 399–406 (2008).

180. - NS3/4A protease-mediated cleavage of the Toll-like receptor 3 adaptor protein TRIF. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **102**, 2992–2997 (2005). This is the first demonstration that HCV can target TLR3 by using the viral protease NS3–4A to cleave and disable TRIF.

181. - Abe T., *et al.*, Hepatitis C virus nonstructural protein 5A modulates the Toll-like receptor-MyD88-dependent signaling pathway in macrophage cell lines. *J. Virol.* **81**, 8953–8966 (2007).

182. - Harte M. T., *et al.*, The poxvirus protein A52R targets Toll-like receptor signaling complexes to suppress host defense. *J. Exp. Med.* **197**, 343–351 (2003).

183. - Kawagoe T., *et al.*, Sequential control of Toll-like receptor-dependent responses by IRAK1 and IRAK2. *Nature Immunol.* **9**, 684–691 (2008). This study characterizes IRAK2-deficient mice and confirms the important role of IRAK2 in NFκB activation.

184. - Datta A., Sinha-Datta U., Dhillon N. K., Buch S. & Nicot C., The HTLV-I p30 interferes with TLR4 signaling and modulates the release of pro- and anti-inflammatory cytokines from human macrophages. *J. Biol. Chem.* **281**, 23414–23424 (2006).
185. - Yoneyama M., *et al.*, The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nature Immunol.* **5**, 730–737 (2004).
186. - Kawai T., *et al.*, IPS-1, an adaptor triggering RIG-I and Mda5-mediated type I interferon induction. *Nature Immunol.* **6**, 981–988 (2005).
187. - Ishikawa H., & Barber G. N., STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling. *Nature* **455**, 674–678 (2008).
188. - Pichlmair A., *et al.*, RIG-I-mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5-phosphates. *Science* **314**, 997–1001 (2006).
189. - Saito T., Owen D. M., Jiang F., Marcotrigiano J. & Gale, M. Innate immunity induced by composition dependent RIG-I recognition of hepatitis C virus RNA. *Nature* **454**, 523–527 (2008).
190. - Kato H., *et al.*, Length-dependent recognition of double stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-I and melanoma differentiation-associated gene 5. *J. Exp. Med.* **205**, 1601–1610 (2008).
191. - Gitlin L., *et al.*, Essential role of MDA-5 in type I IFN responses to polyriboinosinic: polyribocytidylic acid and encephalomyocarditis picornavirus. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **103**, 8459–8464 (2006).
192. - Kato H., *et al.*, Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature* **441**, 101–105 (2006).
193. - Mibayashi M., *et al.*, *inhibition* of retinoic acid inducible gene I-mediated induction of interferon by the NS1 protein of influenza A virus. *J. Virol.* **81**, 514–524 (2007).

194. - Andrejeva J., *et al.*, The V proteins of paramyxoviruses bind the IFN-inducible RNA helicase, MDA-5, and inhibit its activation of the IFN-promoter. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **101**, 17264–17269 (2004).
195. - Barral, P. M. *et al.* MDA-5 is cleaved in poliovirusinfected cells. *J. Virol.* **81**, 3677–3684 (2007).
196. - Yang Y., *et al.*, Disruption of innate immunity due to mitochondrial targeting of a picornaviral protease precursor. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **104**, 7253–7258 (2007).
197. - Seth R.B., Sun L., Ea C.K., & Chen Z. J., Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF-kB and IRF3. *Cell* **122**, 669–682 (2005).
198. - Otsuka M., *et al.*, Interaction between the HCV NS3 protein and the host TBK1 protein leads to inhibition of cellular antiviral responses. *Hepatology* **41**, 1004–1012 (2005).
199. - DiPerna G., *et al.*, Poxvirus protein N1L targets the I-kB kinase complex, inhibits signaling to NF-kB by the tumor necrosis factor superfamily of receptors, and inhibits NF-kB and IRF3 signaling by Toll-like receptors. *J. Biol. Chem.* **279**, 36570–36578 (2004).
200. - Unterstab G., *et al.*, Viral targeting of the interferon- β - inducing Traf family member-associated NF-kB activator (TANK)-binding kinase-1. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **102**, 13640–13645 (2005).
201. - Brzozka K., Finke S., & Conzelmann K.K., Identification of the rabies virus interferon antagonist: phosphoprotein P interferes with phosphorylation of interferon regulatory factor 3. *J. Virol.* **79**, 7673–7681 (2005).
202. - Devaraj S. G., *et al.*, Regulation of IRF-3-dependent innate immunity by the papain-like protease domain of the severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J. Biol. Chem.* **282**, 32208–32221 (2007).
203. - Lu G., *et al.*, ISG15 enhances the innate antiviral response by inhibition of IRF-3 degradation. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand)* **52**, 29–41 (2006).

204. - Wang T., *et al.*, Toll-like receptor 3 mediates West Nile virus entry into the brain causing lethal encephalitis. *Nature Med.* **10**, 1366–1373 (2004).

205. - Le Gaffes R., *et al.*, Detrimental contribution of the Toll like receptor (TLR) 3 to influenza A virus-induced acute pneumonia. *PLoS Pathog.* **2**, e53 (2006).

206. - Hutchens, M. *et al.* TLR3 increases disease morbidity and mortality from vaccinia infection. *J. Immunol.* **180**, 483–491 (2008).
References 99–101 shows that for three distinct viruses the absence of TLR3 benefits the host, suggesting that some viruses actually use TLR3 to facilitate viral dissemination.