



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

RECEPTOR TLR4 Y SU FUNCIÓN EN LA ENFERMEDAD  
PERIODONTAL.

**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:

JAVIER HERRERA BECERRIL

TUTOR: DRA. GLORIA GUTIÉRREZ-VENEGAS



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.



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 Y DEDICATORIAS**

### ***A mi mamá:***

*A ti que me diste la vida, tu amor, apoyo y confianza. A ti que me enseñaste que la única forma de alcanzar mis sueños es trabajando muy duro por ellos. A ti que contra viento y marea luchaste por hacer de mí una persona de provecho. A ti a quien debo todo lo que soy nunca podre pagarte todo lo que me has dado.*

### ***A mi familia y amigos:***

*Gracias a todos ustedes por el apoyo brindado, siempre incondicional, ya que han estado en las buenas y sobre todo en las malas.*

### ***Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad De Odontología:***

*Que me acogió y me enseñó, no sólo a mi formación profesional sino también en lo personal.*

## **OBJETIVO**

El presente trabajo tiene como propósito realizar una revisión bibliográfica de los diferentes receptores que desencadenan la activación de la respuesta inmune innata, en particular los Receptores semejantes Toll (TLR) así como la importancia, de la función del receptor TLR-4 en la enfermedad periodontal.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar la importancia de la inmunidad innata a través de los receptores que desencadenan una respuesta inmune más específica, como lo son los Receptores tipo Toll o TLR's, en la enfermedad periodontal.

Determinar la influencia de los Receptores TLR4 y su función en la enfermedad periodontal.

# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>6</b>
<b>1. INMUNIDAD INNATA</b>	<b>7</b>
1.1 Barreras (mecánicas)	10
<b>2. RECEPTORES (PRRs)</b>	<b>12</b>
2.1 Clasificación de los PRR	16
2.2 Mecanismos de respuesta celular	18
<b>3. RECEPTORES SEMEJANTES A TOLL</b>	<b>21</b>
<b>4. MARCO HISTÓRICO</b>	<b>24</b>
<b>5. DESCUBRIMIENTO</b>	<b>25</b>
<b>6. FUNCIONAMIENTO EN <i>Drosophila melanogaster</i></b>	<b>27</b>
<b>7. ESTRUCTURA Y VÍA DE SEÑALIZACIÓN INTRACELULAR</b>	<b>29</b>
7.1 Mecanismos de señalización intracelular	30
<b>8. SEÑALIZACIÓN VÍA TLR4</b>	<b>32</b>
<b>9. RECEPTORES TLR4 EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL</b>	<b>34</b>
9.1 Lesión gingival inicial	36
9.2 Lesión gingival temprana	37
9.3 Lesión gingival establecida	37
9.4 Lesión gingival avanzada	38
<b>10. CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL</b>	<b>39</b>
<b>11. CONCLUSIONES</b>	<b>44</b>
<b>12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>45</b>
<b>13. GLOSARIO</b>	<b>48</b>

## ÍNDICE GRÁFICO

FIGURA 1	7
TABLA 1	9
FIGURA 2	11
TABLA 2	11
FIGURA 3	12
FIGURA 4	14
FIGURA 5	15
FIGURA 6	16
FIGURA 7	18
FIGURA 8	19
FIGURA 9	22
TABLA 3	23
FIGURA 10	27
FIGURA 11	30
FIGURA 12	31
FIGURA 13	34
FIGURA 14	36
FIGURA 15	37
FIGURA 16	37
FIGURA 17	38
FIGURA 18	40
FIGURA 19	43

## INTRODUCCIÓN

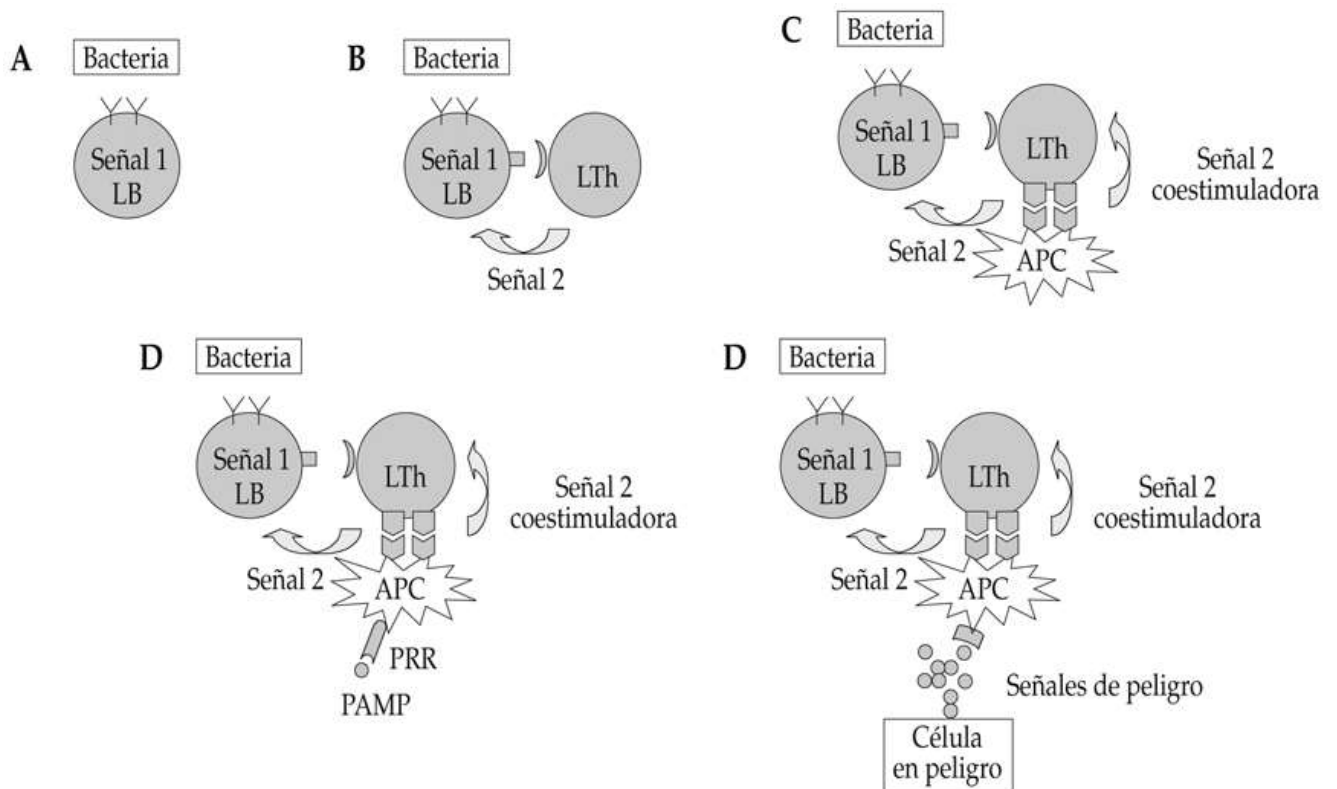
Los receptores tipo Toll constituyen una familia de proteínas que forman parte del sistema inmune innato. Estos receptores reconocen patrones moleculares asociados a patógenos expresados por un amplio espectro de agentes infecciosos, y estimulan una variedad de respuestas inflamatorias. Además, la señalización mediada por los TLRs en las células presentadoras de antígeno (CPAs) representa una parte importante en el vínculo entre la respuesta inmune innata y la adaptativa. Por otra parte, la enfermedad periodontal es la principal causa de pérdida de dientes en adultos y se caracteriza comúnmente por una inflamación crónica causada por la infección de las bacterias orales. Entre las que se encuentra *Porphyromonas gingivalis* que es una bacteria periodontopatogénica y que se aísla con frecuencia en las bolsas periodontales de pacientes con enfermedad periodontal crónica. El lipopolisacárido (LPS) obtenido de *Porphyromonas gingivalis* es un factor clave en el desarrollo de la periodontitis. Los fibroblastos gingivales, son las principales células constituyentes de tejido conjuntivo gingival, que pueden interactuar directamente con las bacterias y productos bacterianos, incluyendo LPS, en las lesiones de periodontitis. Se sugiere que los fibroblastos gingivales juegan un papel importante en las respuestas del huésped a LPS en la enfermedad periodontal. *P. gingivalis* LPS aumenta la producción de citoquinas inflamatorias como la interleucina (IL) -1, IL-6, IL-8, y factor de necrosis tumoral. En conclusión, los receptores semejantes a Toll participan de forma importante en el reconocimiento inicial de patógenos que desencadenan respuestas inflamatorias, como la enfermedad periodontal.



## 1. INMUNIDAD INNATA

La respuesta inmune innata está conformada por un conjunto de mecanismos que permiten reconocer los componentes propios del organismo y diferenciarlos de los microorganismos invasores para generar una primera línea de defensa. (2)

Existen teorías sobre el inicio de la respuesta inmune: (Figura1)



**Figura 1: Teorías sobre el inicio de la respuesta inmune. (7)** A. 1959: Modelo de discriminación propio contra lo no propio, B. 1969: El LB requiere una señal de ayuda del LTh, C.1975: El LTh requiere una señal coestimuladora 2 de la APC, D. 1989: Modelo de discriminación propio vs no propio infeccioso; la APC requiere estimulación vía PRR, E. 1994: Modelo del peligro; la APC requiere estimulación por señales de peligro derivadas del tejido infectado o lesionado. (3)

La respuesta inmune se divide en innata y adaptativa:

La respuesta inmune adaptativa se caracteriza por la selección clonal de linfocitos antígeno específicos, es tardía, tiene memoria, da protección prolongada, no participa en la patogénesis de la sepsis y choque séptico y exclusivamente se presenta en los animales vertebrados.


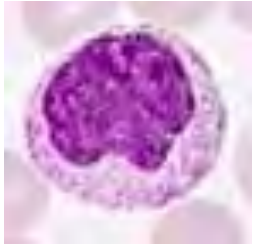

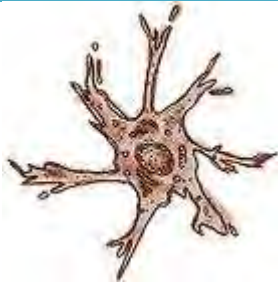
La inmunidad innata es primitiva, por lo que la comparten vegetales y animales (invertebrados y vertebrados, incluyendo mamíferos). Se caracteriza por ser de respuesta rápida, actúa directamente sobre el patógeno sin necesidad de selección o maduración celular, no tiene memoria. (1)

La función de la inmunidad innata es el reconocimiento de constituyentes microbianos. (1)

Esta función está mediada por diferentes receptores presentes en la superficie y en el interior de células inmunes (Tabla 1) y no inmunes; entre ellos se encuentran:

- Receptores semejantes a Toll (RTT),
- Receptores de lectinas tipo C,
- Receptores tipo GIR (genes inducibles por ácido retinoico) y
- Receptores tipo Nod y NALP, que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). (2)

**TABLA 1: CÉLULAS DE LA INMUNIDAD INNATA (6)**

Neutrófilo	Macrófago	Célula NK	Cél. Dendrítica
Fagocitosis Intermediarios Reactivos de oxígeno y nitrógeno. Péptidos anti-microbianos	Fagocitosis Intermediarios reactivos de oxígeno y nitrógeno Medidores inflamación. Presentación de Ag Síntesis citoquinas y proteínas Complemento	Lisis células infectadas por virus Sínt. IFN- $\gamma$ Activación MCFs	Presentac. Ag Co-estimulación Intermediarios reactivos de oxígeno Sínt. IFN- $\gamma$ y Citocinas
			

A su vez los productos microbianos que activan esta respuesta son:

- Lipopolisacáridos,
- Peptidoglicanos,
- Ácido lipoteicoico,
- Lipoproteínas,
- DNA,
- Glicolípidos,
- Fragmentos de pared celular, y
- Lipoarabinomanan, que en conjunto reciben el nombre de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs).
- Receptores celulares encargados del reconocimiento de los PAMPs se denominan receptores de reconocimiento de patrones (PRR). (1)

Bacterias, virus y otros microorganismos son identificados como elementos extraños mediante el reconocimiento de sus patrones moleculares asociados a patógenos por la familia de proteínas TLR, presentes en las células presentadoras de antígenos. (1)

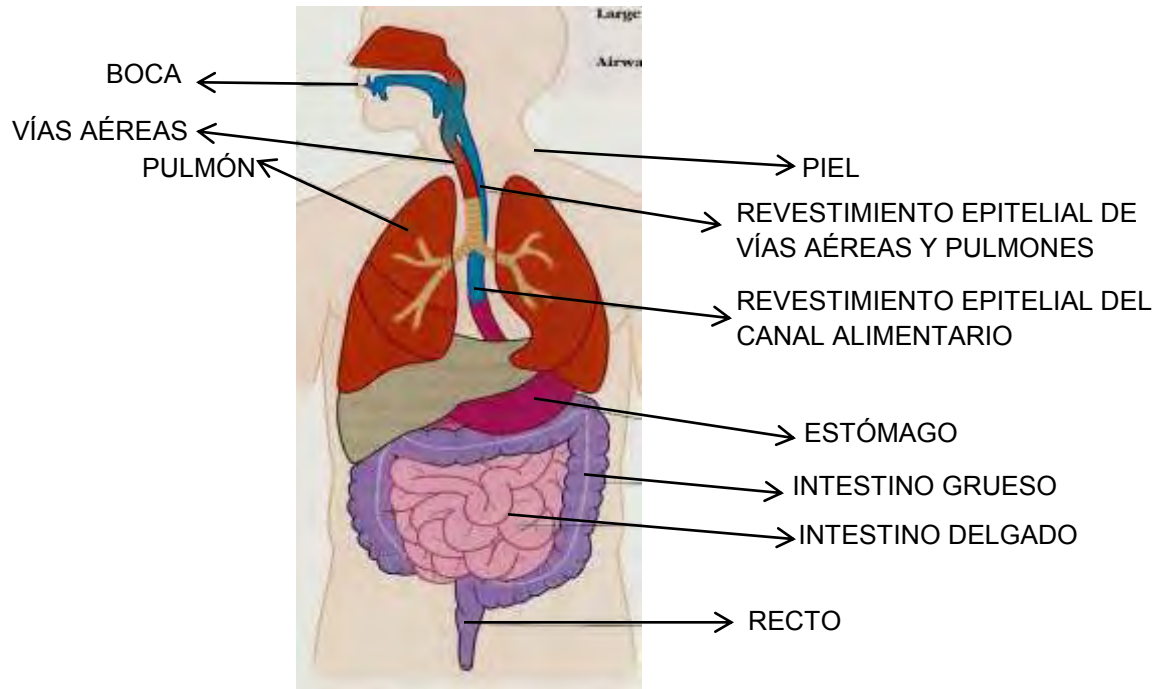
La respuesta que se produce tras la activación de los receptores tipo Toll en las células presentadoras de antígenos incluye un aumento de la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad, de moléculas co-estimuladoras como B7 y un aumento de la expresión de genes dependientes de NFκB como IL12, IL1, IL6 y TNF α. (1)

Las células Th2 inician la respuesta inmunitaria humoral, provocando la activación de linfocitos B específicos de antígenos capaces de eliminar el patógeno, principalmente mediante la síntesis de IgE. (1)

### **1.1 Barreras (mecánicas)**

Son las encargadas de impedir la entrada y el desarrollo de agentes causantes de enfermedad en el organismo. En ellas encontramos:

- **Piel:** Es la primera barrera de protección frente al mundo externo que nos protege de estímulos ambientales que pueden ser beneficiosos o no como las radiaciones, cambios de temperatura, el contacto con microorganismos (bacterias, virus u hongos). Por otro lado, una serie de factores químicos también influyen en las funciones de la piel como: la secreción de sebo que formará una capa protectora sobre la superficie de la piel e impedir el crecimiento de algunas bacterias y hongos; y el sudor que ayudara a mantener una temperatura corporal constante. (Tabla 2)
- **Mucosas:** Son las que recubren las paredes internas de los órganos que se encuentran en contacto con el exterior del cuerpo como el tubo digestivo, la cavidad oral, el aparato respiratorio y el aparato genitourinario. (Figura 2)



**Figura 2: Barreras (mecánicas). (6)** La piel cuenta con dos porciones: la dermis y la epidermis; la epidermis en especial cuenta con varias láminas y unas de las más externas tiene células epidérmicas que contienen queratina la cual protege a nuestro cuerpo, ya que al descamarse periódicamente se eliminara cierta cantidad de microorganismos. Las mucosas inhiben la entrada de microorganismos pero ofrece menos protección que la piel. Para ello segrega moco.

**TABLA 2: BARRERAS (MECÁNICAS)**

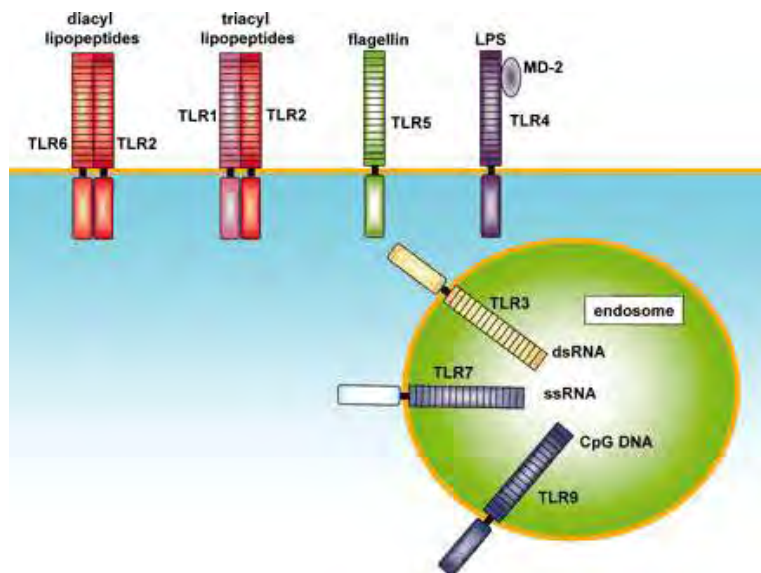
PIEL	Péptidos antimicrobianos y ác. grasos en el sebo.
BOCA Y TRACTO SUPERIOR	Enzimas, péptidos antimicrobianos y limpieza superficies por flujo hacia el estómago.
ESTÓMAGO	pH bajo, enzimas digestivas, péptidos antimicrobianos, flujo hacia el intestino.
INTESTINO DELGADO	Enzimas digestivas, péptidos antimicrobianos, flujo hacia el intestino grueso.
INTESTINO GRUESO	La flora intestinal compite con los patógenos invasores; flujo/heces hacia el exterior.
VÍAS AÉREAS Y PULMONES	Los cilios empujan el mucus hacia fuera; la tos y los estornudos expelen el mucus. Macrófagos en los alvéolos pulmonares.

## 2. RECEPTORES DE RECONOCIMIENTO A PATÓGENOS (PRRs)

También se llaman receptores de reconocimiento de patógenos o receptores de reconocimiento de patrones primitivos porque evolucionaron antes de que otras partes del sistema inmune, particularmente antes de la inmunidad adaptativa. (9)

El sistema inmune innato usa receptores de reconocimiento de patrones (PRR) pre-programados genéticamente para reconocer microorganismos cuando entran al cuerpo y transmitir “señales de peligro” a las células adyacentes. (2)

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 antígenos (células dendríticas y monocitos/macrófagos); también se encuentran presentes en compartimentos intracelulares, en el torrente circulatorio y en fluidos tisulares. (4) (Figura 3)



**Figura 3: Sitios celulares de expresión de TLRs.** El reconocimiento de los diferentes PAMPs requiere más de un TLR o la presencia de otras moléculas como la proteína MD-2 en el reconocimiento del LPS. (19)

Los PRR incluyen diferentes receptores como:

- Tipo Toll,
- Receptores de lectinas tipo C,
- Receptores tipo GIR (genes inducibles por ácido retinoico),
- Receptores tipo Nod (nucleotide-binding oligomerization domain) y NALP (proteínas que contienen dominios NACHT, LRR y pirina, (NATCH-LRR and pyrin domain-containing proteins) entre otros, los cuales se expresan en células del sistema inmune y en células no inmunes. (2)

Los PRR, al interactuar con moléculas de los patógenos conocidas como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), inducen la transmisión de una serie de señales intracelulares que desencadenan la producción de citocinas y la activación de las células inmunes para generar la respuesta inmunológica contra el microbio invasor. (2)

Entre los principales PAMPs que actúan como dianas para la activación del sistema inmune innato se encuentran:

- Lipopolisacárido,
- Ácido teicoico,
- Secuencia de DNA CpG no metiladas,
- Manosa y
- RNA bicatenario característico de virus. (4)

Estos patrones moleculares que se encuentran en los microorganismos patógenos presentan una serie de propiedades comunes:

- Son característicos de los microorganismos y no se encuentran presentes en las células del huésped, esto permite al sistema inmune innato distinguir entre antígenos propios y extraños. (4)
- Son invariables, lo que permite que con un número limitado de PRR se detecte la presencia de cualquier patógeno. (4)

- 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. (4)

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

- 1) Activar distintos procesos característicos del sistema inmune innato, como puede ser 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. (4)
- 2) Establecer una conexión entre la inmunidad innata y adquirida. (4) (Figura 4)



**Figura 4: La unión de un patógeno a través de su PAMP (patógenos patrón molecular asociado). Para PRR del TLR (Pattern Recognition Receptor). Los extracelulares ricos en leucina repiten el TLR, constituyen la región PRR. (Tomada de [www.sabiosciences.com](http://www.sabiosciences.com))**

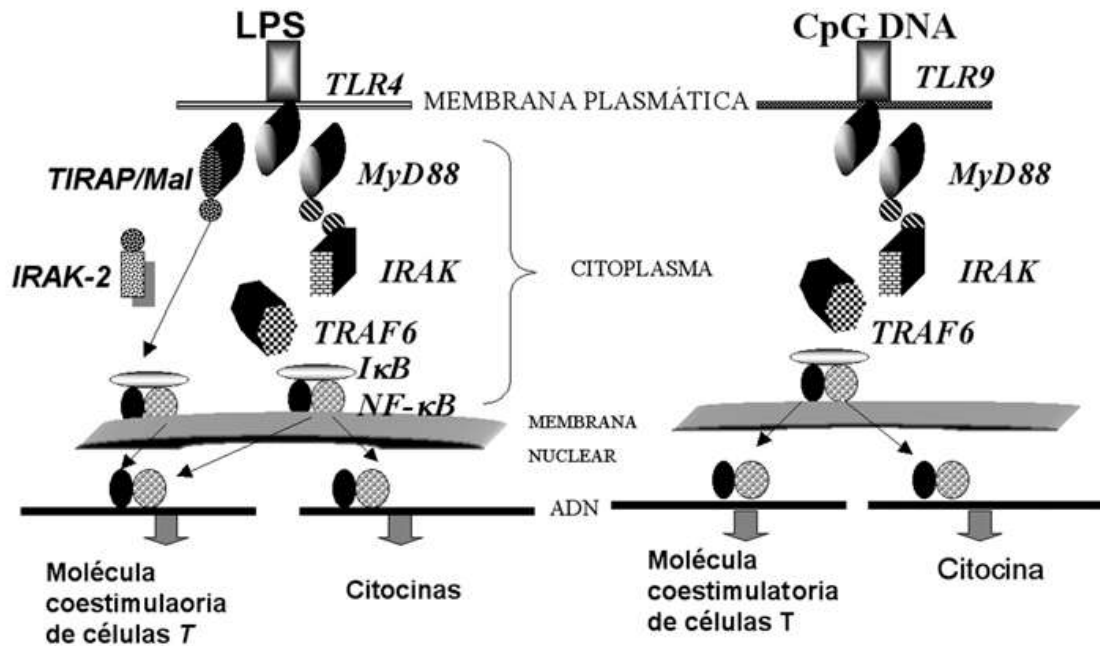
Características de los PRR.

- Se codifican en la línea germinal y evolucionan por selección natural. Es decir, se heredan: R.I innata. (5) (6)
- El número de PRR diferentes se calcula en un orden de decenas (<200).
- Se expresan en muchas células efectoras del S. Inmune, de forma no-clonal (son idénticos en un tipo celular determinado, e incluso pueden expresarse en varios tipos celulares). (5) (6)
- Activan respuestas celulares, generalmente de forma rápida. (6) (5)
- Distribuidos según el tipo de célula. (6) (5)



Características de los PAMPs.

- Están presentes en los microorganismos pero no en los hospedadores. (5) (6)
- Son esenciales para la supervivencia de los microorganismos, por lo que apenas tienen tasa de mutación. (5) (6)
- Son compartidos por clases enteras de microorganismos. (5) (6) (Figura 5)



**Figura 5: Representación esquemática de PAMPs.**

Las bacterias Gram positivas muestran una capa espesa de peptidoglicanos (PGN) en la pared celular. Los ácidos lipoteicóicos, ácidos teicóicos, y lipoproteínas son también incluidas en esta pared celular. Las bacterias Gram negativas tienen una delgada capa de PGN en su pared celular comparadas con las bacterias Gram-positivas. La pared celular de la bacteria Gram-negativa se caracteriza por la presencia de lipopolisacáridos (LPS) en la superficie externa. Los LPS constan de un componente activo, la porción del lípido A, y polisacáridos-O(antígeno O). Este último está expuesto fuera de la superficie celular.

Las porinas están implicadas en la formación de poros a través de los cuales pasan pequeñas moléculas. En *Mycoplasma* las capas de una pared celular están al exterior pero las lipoproteínas y los lipopéptidos están dentro en su membrana citoplasmática. *Mycobacterium tuberculosis* presenta, una espesa capa hidrofóbica que contiene micolilarabinogalactano y trealosa-dimicolato, en adicción a una membrana citoplasmática y una capa de PGN. El lipoarabinomanano es un componente de la pared celular asociado a glicolípidos.

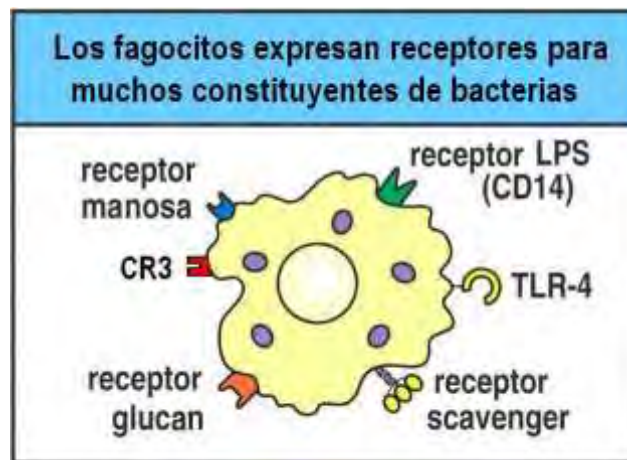
Algunos de esos PAMPs muestran una fuerte actividad inmunológica al actuar como ligandos de diferentes miembros de la familia TLR. (7)

## 2.1 Clasificación de los PRR

**Secretados o solubles:** actúan como opsoninas. Ejemplo: MBL (Mannan Binding Lectins). (5)

Además de los parentales se encuentran en o dentro de las células, también se secretan receptores de reconocimiento de patrones. Estos PRR se unen a las paredes celulares microbianas y permiten que se activen las vías del complemento, así como por los fagocitos. Aquí se puede unir a los hidratos de carbono de bacterias, levaduras, algunos virus, y algunos parásitos. Esto, a su vez, activa la ruta del complemento de lectina y los resultados en la producción de una variedad de proteínas del complemento activados que son capaces de desencadenar la inflamación, quimiotácticamente atraer fagocitos al sitio de la infección, promover la unión de antígenos a los fagocitos a través de una mayor unión o la opsonización, y causa la lisis de las bacterias gram-negativas y células humanas infectadas o transformadas. (8)

**Endocíticos:** Situados en membrana de fagocitos, facilitan la eliminación de bacterias (receptores “scavenger”): Receptores lectinas tipo C. (5) (Figura 6)



**Figura 6: Receptores endocíticos.** Los fagocitos reconocen un conjunto finito de motivos “señales de peligro” (PAMPs y motivos en células alteradas/transformadas). Se muestra la disposición de los diferentes receptores Endocíticos. (14)

- Receptores de manosa

En la superficie de los fagocitos se unen glicanos ricos en manosa, las cadenas de hidratos de carbono cortas, con el azúcar manosa o fructosa como el terminal de azúcar que se encuentra comúnmente en los glicolípidos y glicoproteínas microbianas pero son raros en los de los humanos. Glicoproteínas y glicolípidos humanos suelen tener grupos terminales de ácido siálico N-acetilglucosamina y Lectinas de tipo C se encuentran en la superficie de los fagocitos son receptores de manosa. (8)

- Receptores scavenger

Receptores scavenger encuentran en la superficie de las células fagocíticas se unen a componentes de la pared celular bacteriana tales como LPS y ácidos teicoicos. También hay receptores scavenger para ciertos componentes de otros tipos de microorganismos, así como para estresados, infectadas, o células lesionadas. Scavenger incluyen CD-36, CD-68 y SRB-1. (8)

- Receptores opsonina

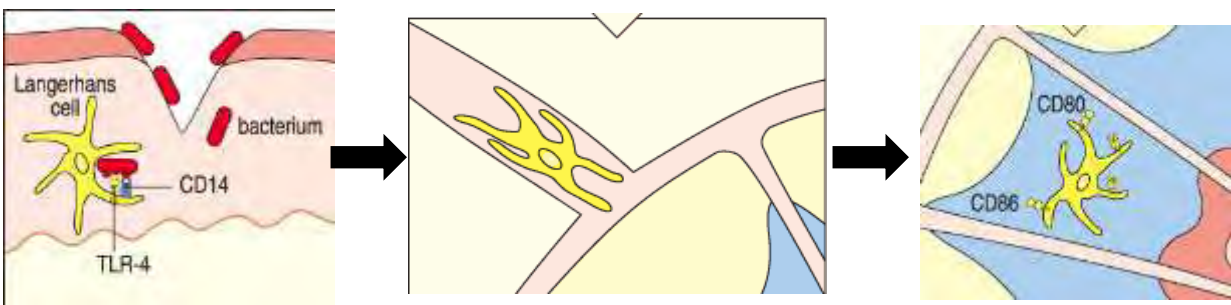
Las opsoninas son moléculas solubles producidas como una parte de las defensas inmunológicas del cuerpo que se unen los microbios a los fagocitos. Una porción de la opsonina se une a un PAMP en la superficie microbiana y la otra porción se une a un receptor específico en la célula fagocítica. (8)

- N-formil-Met receptores

N-formil metionina es el primer aminoácido producido en las proteínas bacterianas desde el f-Met-tRNA en bacterias tiene un anticodón complementario al codón de iniciación. La unión de N-formil a su receptor promueve la motilidad y la quimiotaxis de los fagocitos. También promueve la fagocitosis. (8)

**Señalizadores:** activan vías de transducción de señales: inducen expresión de moléculas de la R.I., como citosinas, quimiocinas, etc. Ejemplo: receptores tipo Toll, receptores NOD. (5)

La unión de PAMPs microbianos a sus parentales promueve la síntesis y la secreción de moléculas reguladoras intracelulares tales como citoquinas que son cruciales para iniciar la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa. (Figura 7) (8)



**Figura 7: Receptores de señalización.** LPS enlaza CD inmaduras a través de TLR4 - Señalización a través de TLR4 induce migración hacia los ganglios linfáticos - La señalización a través de TLR4 aumenta la expresión de las moléculas coestimuladoras CD80, CD86, Las CD maduras activan las células T y por lo tanto inducen la inmunidad adaptativa (14)

## 2.2 Mecanismos de respuesta celular

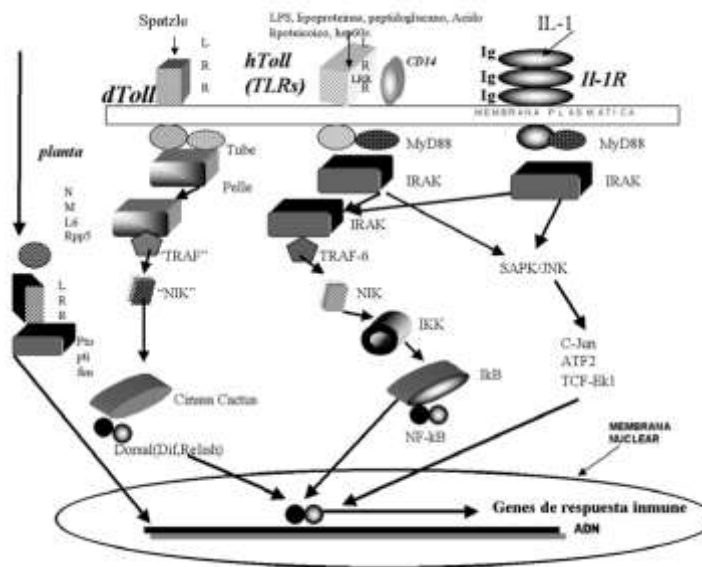
En respuesta a la activación de los receptores PRR las células sintetizan péptidos antimicrobianos y citoquinas efectoras que activan componentes adicionales del sistema inmunitario del huésped. Este sistema de inmunidad innata también existe en los vertebrados. (7)

Los PRR celulares se localizan en las células efectoras del sistema inmunológico innato, como monocitos, macrófagos, células dendríticas, células B, células epiteliales y células que presentan antígenos en la superficie de las mucosas. (7)

Los PRR al interactuar con moléculas de los microbios conocidas como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), inducen la transmisión de una serie

de señales intracelulares que desencadenan la producción de citocinas y la activación de las células inmunes para generar la respuesta inmunológica contra el microbio invasor. (2)

Estos receptores estimulan la activación y diferenciación de linfocitos específicos. Por lo tanto una señal recibida e interpretada por un mecanismo de defensa no específico y no clonal es directamente mejorada por la respuesta inmunológica adaptativa. (7) (Figura 8)



**Figura 8: Activación de la inmunidad adaptativa a través de TLR.** Las células dendríticas inmaduras en los tejidos periféricos son sensibilizadas por patógenos invasores, estos son reconocidos por TLRs o capturados por endocitosis, la señal de los TLRs permite la maduración de las células dendríticas (DCs), las DCs maduras muestran una baja expresión de CCR5 y una alta expresión de CCR7, el cual puede proveer cooperativamente DCs con la habilidad de salir de los tejidos y migrar

Los productos procesados son entonces presentados a las células T como complejos antígeno-MHC. Las señales de los TLRs juegan un papel importante en la activación de células T clonales por el aumento de la expresión de moléculas MHC y moléculas coestimuladoras. Los TLRs pueden también regular la diferenciación de células T mediante la producción de citoquinas proinflamatorias tales como IL-12. IL-12 puede instruir a las células T a diferenciarse en células TH1. En consecuencia, el establecimiento de la inmunidad adaptativa es influenciada por DCs estimuladas por TLRs. (7)

Las células dendríticas (DCs) funcionan como centinelas en la primera línea de defensa de defensa del huésped y juegan un papel importante como células que presentan antígenos (APCs) en la formación de las respuestas inmunológicas. Las células dendríticas inmaduras residen en los tejidos no linfoides como la piel. (7)

El estímulo bacteriano puede inducir a las DCs a liberar citoquinas como el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) o la interleucina 12 (IL-12), las cuales son importantes para la diferenciación de células T en células Th1. (7)

La habilidad inductora de las citoquinas depende del tipo de estímulo en las células dendríticas. Por ejemplo, el dinucleótido guanosina-fosfato-citocina-de DNA (CpG DNA) encontrado con mayor frecuencia en procariotos que en DNA de vertebrados puede estimular a las DCs a producir más IL-12, en comparación que con el estímulo mediado por lipopolisacáridos (LPS), aunque ambos estímulos poseen la habilidad de inducir Th1. Esos estímulos inducen a la sobrerregulación de moléculas coestimuladoras en DCs incluyendo CD40, CD80 y CD86. Este paso llamado maduración de las DCs es crucial para la activación de las células T. en respuesta al estímulo patogénico las DCs migran hacia áreas de células T en órganos linfoides secundarios. (7)

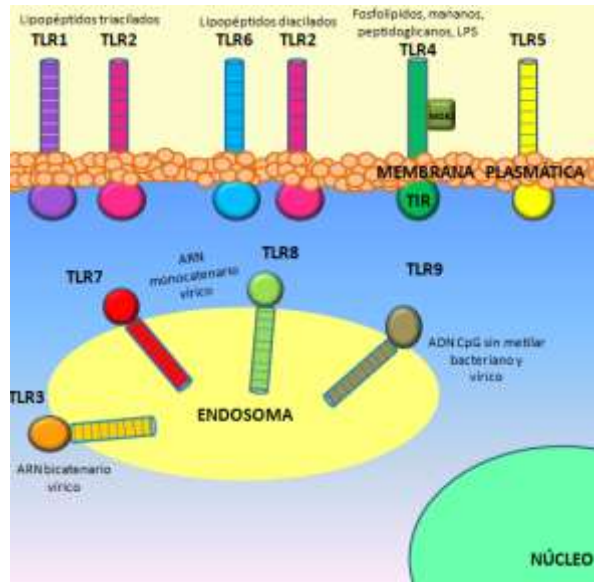
Esta activación genera respuestas inmunológicas tipo 1 (innatas) contra los patógenos. Aunque todavía no se conoce cómo, se ha implicado la participación de los TLRs en las funciones de las DCs. (7)

### 3. RECEPTORES SEMEJANTES A TOLL

Los receptores semejantes a Toll juegan un papel crucial en la detección de la infección microbiana en los mamíferos y los insectos. En los mamíferos, estos receptores han evolucionado para reconocer los productos conservados únicos para el metabolismo microbiano. Esta especificidad permite que las proteínas Toll para detectar la presencia de la infección y para inducir la activación de la respuesta inmune innata inflamatoria y antimicrobiana. Reconocimiento de productos microbianos por los receptores semejantes a Toll expresados en las células dendríticas desencadena la maduración funcional de estas células y conduce a la iniciación de la respuesta inmune adaptativa antígeno-específico. (15)

Los receptores semejantes a Toll (TLR) se conocen clásicamente por su expresión en las células presentadoras de antígeno (APC) donde participan en el reconocimiento de estructuras moleculares asociadas a los patógenos (PAMP) que no están presentes en las células del hospedero. Sin embargo, como lo demuestran varios estudios recientes. (3)

Los TLR tienen una distribución tisular mucho más amplia, pueden reconocer moléculas derivadas de los tejidos lesionados del hospedero y desencadenan respuestas no solo inmunes si no también metabólicas y de comportamiento propias de los estados de enfermedad. De acuerdo con estas observaciones es posible considerar a los TLR como receptores de señales de peligro tanto exógenas como endógenas, y por tanto como un puente entre la teoría del reconocimiento de lo no propio infeccioso y la teoría del peligro, lo cual plantea una serie de repercusiones que van más allá de la respuesta inmune. (3) (Figura 9)



**Figura 9: Receptores de señalización endógena y exógena.** Los TLRs funcionan como PRR al intervenir en el reconocimiento de PAMPs y son expresados sobre la superficie celular (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6); mientras que otros son expresados en las membranas endosómicas (TLR3, TLR7, TLR8, TLR9) interviniendo en el reconocimiento de los ácidos nucleicos de los microorganismos fagocitados por las células. Adaptado de Takeda K. y S Akira S. *Toll-like receptors in innate immunity.* (21)

En los mamíferos, incluyendo al hombre, existe un sistema de receptores de reconocimiento de PAMPs que por su semejanza en estructura y función con el sistema Toll de *Drosophila* se denominan receptores semejantes a Toll. (7)

Se han descrito 10 TLRs en humanos, los cuales son proteínas transmembrana con un dominio extracelular rico en repeticiones de leucina (N-terminal), un dominio transmembrana y uno intracelular denominado TIR (C-terminal), el cual es similar al dominio intracelular del receptor de interleucina1. (1)

Los TLRs se expresan tanto en tejido linfoide como no linfoide. TLR1 se expresa en monocitos, neutrófilos, células B y células asesinas naturales. TLR2 en monocitos, neutrófilos y células dendríticas. TLR3 en células dendríticas. TLR4 en monocitos, neutrófilos, células dendríticas y endoteliales. TLR5 en monocitos y células dendríticas. El resto de TLRs se expresan fundamentalmente en monocitos y células dendríticas. (1)



En la actualidad se conocen 11 TLR en humanos (TLR1-TLR11) que tienen un patrón de expresión variable en los tejidos linfoides y no linfoides. De modo característico, los TLR tienen un amplio rango de ligandos que incluyen motivos estructurales presentes en bacterias, hongos levaduras y parásitos, así como de algunos componentes derivados de los tejidos del hospedero. (3) (Tabla 3)

**TABLA 3: RECEPTORES TLR. (6)**

TLRs	LIGANDOS	MICROORGANISMOS BLANCO
<b>TLR1</b>	Triacil lipopéptidos	Mycobacterias
<b>TLR2</b>	Péptidoglicanos Proteínas GPI Lipoproteínas	Bacterias G+ Mycobacterias Levaduras y hongos
<b>TLR3</b>	dsRNA	Virus
<b>TLR4</b>	LPS	Bacterias G
<b>TLR5</b>	Proteína F	RSV
<b>TLR6</b>	Diacil lipopéptidos Zymosan	Mycobacterias Levaduras y hongos
<b>TLR7</b>	ssRNA	Virus
<b>TLR8</b>	ssRNA	Virus
<b>TLR9</b>	CpGs	DNA bacteriano
<b>TLR10</b>	Correceptor como TLR2/6	
<b>TLR11</b>	Profilina	<i>Toxoplasma</i>

#### 4. MARCO HISTÓRICO

1988- se descubre IL-1R. El tallo citoplásmico no se parece a nada conocido. (6)

En 1988 Nusslein-Volhard acuñó el término Toll que en alemán significa extraordinario para referirse a un gen que codifica para un receptor de membrana involucrado en el desarrollo dorso ventral de la mosca de la fruta, ya que cuando estos insectos carecían de esta proteína se desarrollaban de manera fuera de lo común, de ahí que en un principio los TLRs se relacionaran con la diferenciación morfológica de este insecto. (10)

A mediados de los años noventa del siglo pasado, se descubrió que la defensa fisiológica generada por la mosca de la fruta consistía en la producción de diferentes péptidos antimicrobianos. (10)

1991- parte de la proteína Toll es semejante al dominio interno del receptor humano para la IL-1. (6)

1996- las moscas del vinagre se sirven de Toll para defenderse de las infecciones fúngicas. (6)

Tagushi describió el primer TLRs en humanos, al que denominó TIL y que corresponde a TLR1. (6)

1997- se identifica la primera proteína Toll humana. En 6 meses se descubren 5 y se denominan TLR. (6)

El primer TLR humano fue descrito en 1997, actualmente sabemos que la familia TLR cuenta con 13 miembros; estos receptores presentan tres regiones estructurales: el extremo amino que contiene la región extracelular y el dominio de unión al ligando que se caracteriza por presentar secuencias repetidas ricas en leucina, una región transmembranal, y el extremo carboxilo contiene la región intracelular que contiene un dominio TIR (receptor Toll/IL-1) que originalmente se identificó en el receptor de IL-1. (10)

1998- las mutaciones de TLR4 protegen a los ratones frente al LPS. (6)

2000- los TLR reconocen moléculas que son básicas para la supervivencia de los patógenos. (6)

## 5. DESCUBRIMIENTO

La proteína Toll fue identificada como un componente esencial de la vía que establece el desarrollo dorso-ventral del embrión de *Drosophila melanogaster*. Dos investigadores, Nüsslen-Volhard y Wieschaus, estudiaron mutaciones letales que afectaban al desarrollo del cigoto de *Drosophila*. Encontraron una línea de embriones procedentes de hembras heterocigotas que presentaban una mutación en un gen que impedía el desarrollo del mesodermo y del sistema nervioso central. Identificaron el gen mutado y comprobaron que daba lugar a un receptor transmembrana que denominaron Toll. (10)

Varios TLRs se han identificado en células de la sangre y monocitos- macrófagos en base a su homología con la proteína Toll *Drosophila*. (11)

La activación de este receptor a través del ligando *spätzle*, inicia una cascada de señalización en la que intervienen una serie de proteínas que finalmente conlleva la degradación de la proteína *cactus* y la liberación de *dorsal*, la cual, se puede traslocar al núcleo y activar o reprimir la expresión de genes que intervienen en el desarrollo embrionario de *Drosophila* adulta, la vía de señalización de Toll es necesaria para inducir la transcripción de un gen que da lugar a un péptido antifúngico denominado drosmocina en respuesta a una infección por hongos. (10)

Los TLRs son también implicados en la respuesta defensiva a la infección por hongos (12)

En estudios posteriores se observó que moscas adultas con mutaciones en el gen Toll eran incapaces de inducir la expresión del péptido drosmocina cuando eran infectados con *Aspergillus fumigatus*. Estos mutantes no eran susceptibles a infecciones bacterianas, lo que sugería que la respuesta antibacteriana y la respuesta antifúngica seguían distintas vías de señalización. (10)

En la actualidad se han encontrado nueve miembros de la familia Toll en *Drosophila* entre los que se encuentran receptores capaces de reconocer componentes bacterianos como la proteína de la familia Toll presente en *Drosophila* denominada 18-Wheeler. (10) Hay notable similitudes estructurales y funcionales entre la *Drosophila* Toll-mediada y mamíferos IL-1 mediadas por los receptores señalizaciones (13)

Recientemente se han identificado en plantas y en mamíferos una serie de proteínas con homología a la proteína Toll de *Drosophila* y que reciben el nombre de “receptores semejantes a Toll” (TLR). La proteína de Toll de *Drosophila* y los TLRs presentes en plantas y mamíferos son proteínas transmembrana tipo 1 que presentan un dominio extracelular con segmentos repetidos ricos en leucina (LRRs) y un dominio citoplásmico muy conservado con homología con el dominio citoplásmico del receptor de la interleukina 1, denominado dominio TIR. (10)

En los últimos años, miembros de la familia TLR han sido clonados y su distribución en las distintas especies indica que el sistema de señalización de TLR está altamente conservado. (10)

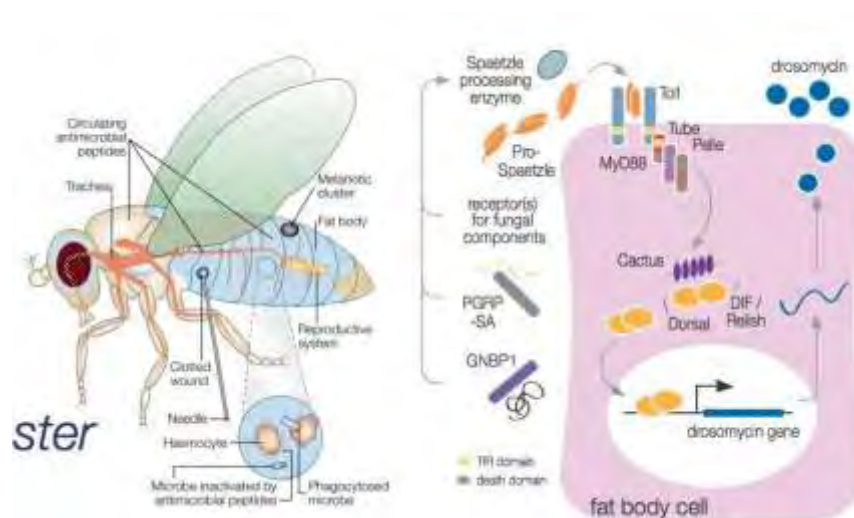
Dos de los TLR de mamíferos, TLR2 y TLR4, han sido demostrado que mediar LPS de respuesta en sistemas *in vitro*. (14) Aunque TLR2 es capaz de mediar señales de LPS *in vitro*, su papel como receptor de LPS *in vivo* ha sido cuestionada a raíz de los recientes hallazgos que dos cepas de ratón (C3H/HeJ y C57BL10/ScCr) que presentan deterioro de la capacidad para responder a muchos tipos de LPS tener diferentes mutaciones en el gen TLR4 (15)

## 6. FUNCIONAMIENTO EN *Drosophila melanogaster*

Los receptores Toll se describieron inicialmente en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* como moduladores de la polarización dorsoventral durante el desarrollo embrionario. Posteriormente se estableció que eran parte fundamental de la inmunidad innata de la mosca para su defensa en contra de infecciones bacterianas y micóticas. (1)

La familia Toll de *Drosophila* y sus homólogos humanos son miembros de la familia de receptores de IL-1. Además de TLR4, TLR1, TLR2, TLR3, TLR5, y TLR6 han sido identificados. (13)

El gen Toll de *Drosophila* codifica para una proteína con características de un receptor que activa vías de transducción. Toll y los genes relacionados a esta proteína tienen muchas funciones en *Drosophila* relacionadas a la estabilidad durante su desarrollo embrionario. (7) El gen para TLR4 se encuentra dentro del área objetivo *LPS* del cromosoma 4. Un punto de mutación no conservativa en TLR4 en ratones C3H/HeJ y la mutación nula de TLR4 en ratones C57BL10/ScCr también han sido identificados. (13) (Figura 10)



**Figura 10: The Toll pathway of soluble immunity in *D melanogaster*.** Reconocimiento del antígeno lleva a la activación de una proteasa que convierte el precursor Spatzle en el activo, ligando dimérico que se une y recluta Toll tres proteínas (MyD88, Pelle y tubo)  
Tomado de [unipv.it/nfs/minf/dispense/immunology/lectures/files/evolution\\_immunity.html](http://unipv.it/nfs/minf/dispense/immunology/lectures/files/evolution_immunity.html)

Los receptores Toll son una familia de proteínas transmembrana con un dominio extracelular caracterizado por repeticiones de leucina (LRR: Leucine-Rich Repeat) y un dominio intracelular homólogo al receptor de interleucina 1 de los mamíferos, cuya función es el reconocimiento de los PAMPs. En *Drosophila* los receptores Toll inducen la activación de genes que inducen la síntesis de péptidos antibacterianos como la atocina y antifúngicos como la drosmocina. (1)

En *Drosophila*, el receptor de transmembrana, juega un papel en la polaridad dorsoventral del embrión. El dominio citoplásmico de peaje tiene homología con el dominio citoplasmático de IL-1 RI. Además, el receptor Toll y la IL-1 RI tienen vías de señalización similares que implican los homólogos de *Drosophila* de MyD88, IRAK, me kappa B, y NF-kappa B. homólogos de mamífero del receptor Toll se han identificado. Homólogos humanos son llamados los receptores tipo Toll o TLR. Un mutante constitutivamente activa TLR4 puede inducir la activación de NF-kappa B y la expresión de IL-1, IL-6, IL-8, y B7-1. (13)

La regulación de la respuesta inmunológica ante el tratamiento con patógenos y otros procesos del ciclo de vida de *Drosophila*, incluyendo el control de la forma del cuerpo y la regulación del desarrollo muscular. Las actividades en la embriogénesis y la respuesta inmunológica son controladas a través de rutas que muestran una gran similitud funcional y estructural con la cascada de transducción de señales IL-1R. (7)

Se han descrito en la mosca de la fruta, nueve proteínas semejantes a Toll, pero sólo dos de éstas intervienen en la respuesta de inmune: Toll y 18-Wheeler. (1)

El sistema molecular que activa en la mosca de la fruta una vez que Toll reconoce las PAMPs, es semejante a la vía de interleucina 1/factor nuclear kB de los mamíferos. Toll utiliza como ligando a Spatzle, proteína que tiene que ser activada por una proteasa denominada Easter. El complejo Toll-Spatzle recluta a una proteína adaptadora que se denomina Tube y activa un complejo citoplásmico de cinasa de treonina-serina que recibe el nombre de Pelle.

A pesar de no tener inmunidad adaptativa, el sistema innato mediado por receptores Toll en *Drosophila* es efectivo y altamente específico para el control de infecciones bacterianas y micóticas. (1)

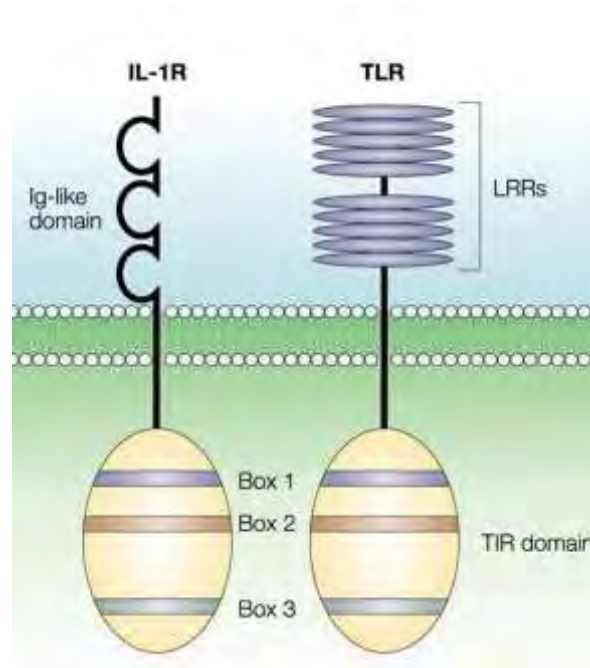
La cascada de señalización Toll mediada por el uso de la ruta de NF-kappaB ha demostrado ser esencial para la respuesta inmune en adultos de *Drosophila*, y que informado recientemente de que un homólogo humano de la proteína Toll de *Drosophila* induce varios genes de respuesta inmune a través de esta vía. (11)

## 7. ESTRUCTURA Y VÍA DE SEÑALIZACIÓN

La familia de proteínas ricas en leucina (LRR) presenta diversas funciones y localización celular y han sido aisladas de una gran variedad de organismos. (7)

Todos los TLR's comparten la misma estructura: un gran dominio extracelular (550 a 980 aminoácidos) que consiste en repeticiones ricas en leucina, un dominio transmembrana y una porción citoplasmática similar al receptor de IL-1 llamado TIR (como Toll/IL-1R-) de unos 200 aminoácidos de longitud. (16) (17)

El dominio extracelular en los receptores Toll es una región rica de repetición de leucina (LRR), esta región está conformada por módulos cortos de proteína formados de entre 20 a 29 aminoácidos, que se caracterizan por una porción de residuos hidrofóbicos en las regiones extracelular, membranal y citoplásmica. (7)  
(Figura 11)

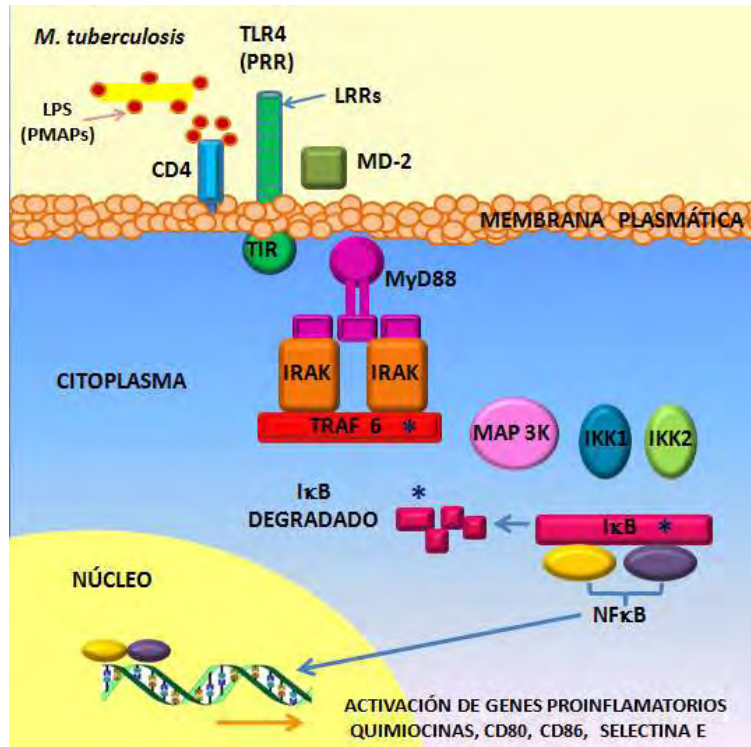


**Figura 11: Los TLRs son proteínas transmembrana tipo I.** Contienen un dominio intracelular y un dominio extracelular. Observamos las diferencias y similitudes existentes entre el receptor TLR y el de IL-1 (19)

### 7.1 Mecanismos de señalización intracelular

Los mecanismos moleculares por los cuales intervienen los RTT en la generación o exacerbación de las enfermedades autoinmunes se concentran en las cascadas de señalización intracelular que se desencadenan una vez que los RTT han reconocido su ligando, por medio de las cuales se reduda en la translocación al núcleo de factores de transcripción encargados de inducir la producción de citocinas proinflamatorias que, en última instancia, contribuyen a la generación y potenciación de la patogénesis de las enfermedades autoinmunes, como ya se ha descrito (Figura 12). (2)





**Figura 12: Representación de los RTT y sus principales vías y moléculas de señalización.** Los RTT tienen un dominio intracelular llamado receptor Toll/IL-1 (TIR, por la sigla en inglés de Toll/IL-1 receptor) el cual interacciona con moléculas adaptadoras que permiten el inicio de la cascada de señalización intracelular. MyD88 es la molécula adaptadora más comúnmente usada por todos los RTT a excepción de RTT3. Una vez que TIR interacciona con MyD88, esta se une a las quinasas asociadas al receptor de IL-1 (IRAK 1 o 4) las cuales, a su vez, se unen al factor asociado al receptor del TNF-6 (TRAF-6) para activarlo y estimular la cinasa 1 activada por TAK1; esta cinasa pone en marcha la señalización por las MAP-cinasas para generar la activación y translocación de factores nucleares como PA-1 y NF-κB, y la consecuente transcripción de genes que codifican para citocinas proinflamatorias e INF-1 (1,73). RTT3 usa a TRIF (adaptador que contiene el dominio TIR inductor de interferón, por la sigla en inglés de TIR-domain-containing-adaptor inducing interferón como molécula adaptadora en lugar de MyD88, la cual activa la cinasa de unión al activador del NF-κB asociado a los miembros de la familia del TRAF (TBK1) (TRAF: factor asociado al receptor TNF, por la sigla en inglés de TNF receptor asociado al factor; TBK1: quinasa 1 de unión a TANK, del inglés TANK-binding kinase 1). La interacción de TRIF con TBK1 lleva a la activación de IRF3 que es un factor de transcripción implicado en la producción de INF tipo I. Para activar el NF-κB, el RTT3 se vale de la interacción entre TRIF y TRAF6. Los posibles blancos terapéuticos para el tratamiento de los desórdenes inflamatorios son señalados con una estrella. (21)

Se ha sugerido la posibilidad de que interviniendo algunos puntos de estas vías de señalización, se podría inhibir su efecto proinflamatorio y, por ende, generar un efecto regulador en la patogénesis de estos procesos. Basados en esta hipótesis, varios grupos han estudiado diferentes puntos de las cascadas de señalización de los RTT como blancos para el tratamiento de la autoinmunidad. (2)

## 8. SEÑALIZACIÓN VÍA TLR4

TLR4 fue la primera TLR identificado y se caracterizó como un receptor de reconocimiento de patrones a través del estudio de la lipopolisacárido (LPS), (15) expresado en macrófagos y células dendríticas. El LPS en circulación es capturado por LBP (proteína de unión de LPS). LPS-LBP es transferido a CD14 en la superficie de fagocitos. (19)

El año 1998 se demostró que estaba involucrado en el reconocimiento de LPS. Este reconocimiento requiere además de la participación de otras moléculas asociadas. En el caso del LPS, éste se une a una proteína de unión al LPS (LBP), presente en el suero, y este complejo LPS-LBP es reconocido por la molécula CD14, expresada preferentemente por monocitos, macrófagos y neutrófilos. (20)

Hubo controversia en cuanto a si TLR4 participa directamente en la unión del ligando y la discriminación. TLR4 podría desempeñar un papel secundario en la unión del ligando, como residuos en la MD-2 (C95 y C105) importantes para la unión a TLR4, se encuentran en el borde de la unión al ligando cavidad. Esto fue apoyado por el LPS mayor afinidad del complejo MD-2/TLR4. (15)

La estimulación por LPS es seguida por un aumento en la proximidad física entre CD14 y el RTT 4, lo que sugiere que CD14 y RTT 4 interactúan en las señales inducidas por LPS. También participa la proteína MD-2, la cual se asocia con la porción extracelular del RTT4 y aumenta la respuesta al LPS. (20)

Otra proteína de superficie celular, la RP-105, también está involucrada en el reconocimiento de este ligando. (20)

Esta proteína contiene un dominio relacionado estructuralmente a aquellas encontradas en la porción extracelular de los RTT y se expresa preferentemente en la superficie de los linfocitos B. (20)

Además del LPS, el RTT 4 reconoce otros ligandos, como el Taxol, el cual tiene actividad antitumoral; también reconoce a la proteína de fusión del virus respiratorio sincicial (VRS). Se ha demostrado que ratas que presentan una mutación del RTT 4 exhiben una respuesta inflamatoria. (20)

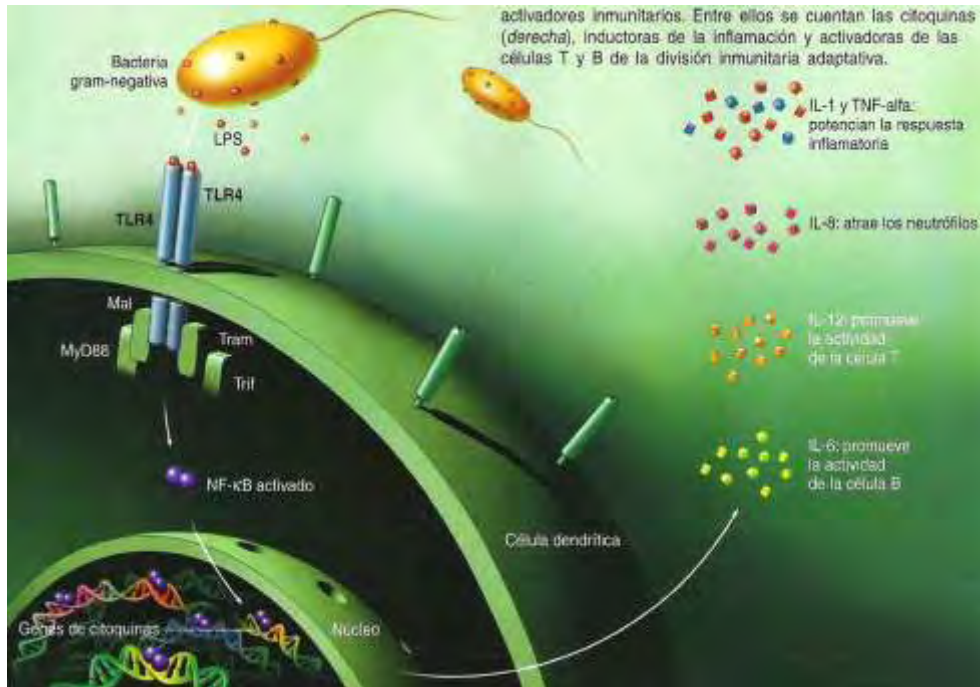
El RTT 4 también es capaz de reconocer ligandos endógenos, como la proteína de shock térmico 60 (HSP60), la cual estimula a los macrófagos y células dendríticas para que secreten citoquinas proinflamatorias y expresen moléculas co-estimuladoras. La HSP60 es una de las “señales de peligro”, es decir, moléculas que se liberan por parte de células que están sufriendo estrés o necrosis. Estas señales son reconocidas por los macrófagos y células dendríticas, lo que inicia una respuesta inmune. (20)

Estas moléculas endógenas activan células inmunes sólo cuando están presentes en altas concentraciones, a diferencia de las concentraciones requeridas para el LPS. RTT 4 se expresa en bajas concentraciones en el epitelio intestinal normal; sin embargo, está muy aumentado en Enfermedad Inflamatoria Intestinal. Esto apoya la teoría de que esta enfermedad resultaría de una respuesta inflamatoria exagerada a bacterias intestinales.

La expresión de los receptores semejantes a Toll en las células epiteliales está finamente regulada, lo que explica por qué bacterias Gram negativas patógenas y no las comensales inducen la respuesta inflamatoria. (20)

La activación de la cascada de señalización de los TLR's se origina en el dominio TIR, el cual posee cuatro adaptadores, (MyD88, TIRAP/MAL, TRIF, y TRAM). Estos adaptadores están asociados con las interacciones del dominio TIR, siendo diferentes los adaptadores que se activan según el tipo de TLR, existiendo diferentes combinaciones de estos adaptadores. (18)

El funcionamiento de estas rutas puede ser dependiente o independiente de la proteína adaptadora MyD88 (factor de diferenciación mieloide 88) (Figura 13) (17)



**Figura 13: Señalización de los TLR.** Estos responden a distintos patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) a los cuales reconocen y se ligan para después expresarse en las células de defensa. (6)

## 9. RECEPTORES TLR4 EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.

La enfermedad periodontal es la principal causa de pérdida de dientes para adultos y se caracteriza comúnmente por una inflamación crónica causada por la infección de las bacterias orales. *Porphyromonas gingivalis* es una de las presuntas bacterias periodontopáticas. (22)

En el periodonto se encuentran células inmunitarias como los macrófagos, Langerhans, dendríticas y neutrófilos migratorios entre otros, estos expresan TLR desde la encía que es la más expuesta a microorganismos hasta tejidos más profundos esto para señalar y reconocer microorganismos. (23)

La acumulación de placa bacteriana subgingival aumenta las colonias bacterianas y así la destrucción del periodonto formando bolsas profundas la microflora subgingival se convierte anaeróbica y la respuesta del hospedero se vuelve más severa y crónica. (23)

La *P. gingivalis* es un habitante oral que como se ha visto y descrito anteriormente, produce la enfermedad periodontal, incita una respuesta inmune de tipo TH1 in vivo e in vitro y al mismo tiempo induce una tolerancia oral *in vitro*, ya que las células epiteliales gingivales pueden ser sujetas a una regulación negativa de los TLRs presentes en la superficie y a otros receptores de mediadores inflamatorios, debido a la exposición repetida de los patrones moleculares asociados a patógenos provenientes de los microorganismos presentes en la placa bacteriana, dando como resultado de forma local una tolerancia a la endotoxina, lo que puede resultar en una resistencia a la infección. (31)

Esto sugiere que los mecanismos de defensa del huésped son importantes para limitar las cantidades de bacterias en la placa subgingival y prevenir así daños al endotelio gingival. Una especie bacteriana debe superar varios obstáculos del huésped para colonizar un sitio subgingival. Algunos de estos son el flujo salival, el fluido gingival y el desplazamiento mecánico por la masticación. (12)

Las sustancias de la saliva pueden ayudar en la prevención de la colonización mediante varios mecanismos como anticuerpos específicos, glucoproteínas salivales, proteínas ricas en mucina, y prolina que podrían actuar como agentes bloqueantes inespecíficos. (25).

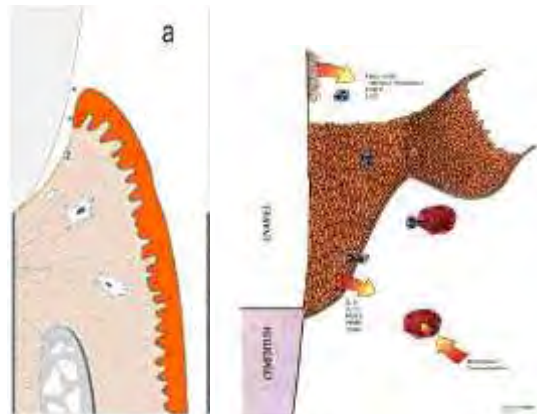
La enfermedad puede llegar a ser más destructiva si aspectos específicos de los mecanismos de defensa del huésped (anticuerpos, PMNs, citoquinas, prostaglandinas, etc.) dentro de los tejidos son más abundantes. Esto parece ocurrir por lo menos en parte, debido a la hiper-respuesta a los factores, intrínsecos (genéticos) e inducidos (fumar), que aumentan el desafío bacteriano dentro de los tejidos que lleva al desarrollo de los signos y síntomas de la enfermedad periodontal. (12)

Las bacterias gram positivas pueden estimular la respuesta del sistema inmune desde su pared celular, tiene como factor de virulencia ácido lipoteicoico (LTA) así mismo cuenta con peptidoglucanos (PG) al igual que las gram negativas. TLR2 es el receptor más importante para su detección porque está involucrado en la

localización de LTA y PG, así mismo interactúa con TLR 1 y 6 que se encargan de diferenciar los cambios de la porción lipídica. (23)

### 9.1 Lesión gingival inicial

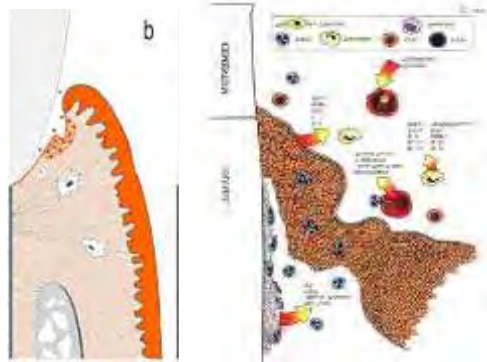
Esta se produce 24 horas después de la acumulación de placa en el diente. Histopatológicamente, es evidente la dilatación de las arteriolas, capilares y vénulas. Simultáneamente a las alteraciones vasculares, la migración de los neutrófilos desde el sistema vascular dentogingival es reforzada por las moléculas de adhesión como la molécula-1 de adhesión intracelular (ICAM-1) y la molécula-1 de adhesión leucocitaria endotelial (ELAM-1). (Figura 14) (25)



**Figura 14. Lesión gingival inicial y Sucesos clínicos e histopatológicos de la lesión.** Los leucocitos migran por un gradiente quimiotáctico hacia la hendidura y la mayoría tienen la capacidad de producir receptores CD44 en sus superficies, que permite la unión de la célula con el tejido conectivo. La mayoría de leucocitos se acumulan en el epitelio de unión y en el área de la hendidura gingival. (32)

## 9.2 Lesión gingival temprana

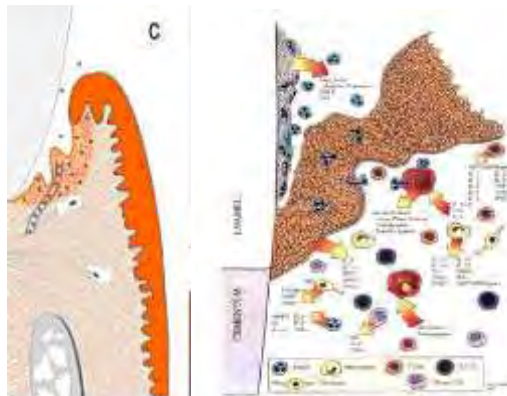
Se produce aproximadamente siete días después de la acumulación de placa. (25). La lesión temprana puede persistir mucho tiempo y con gran variabilidad entre un individuo al otro. (Figura 15)



**Figura 15. Lesión gingival temprana. Y Sucesos clínicos e histopatológicos de la lesión.** Los linfocitos y neutrófilos constituyen la infiltración leucocitaria predominante en esta etapa y se observan muy pocos plasmocitos en la lesión. Se produce destrucción de colágeno en el área infiltrada (32)

## 9.3 Lesión gingival establecida

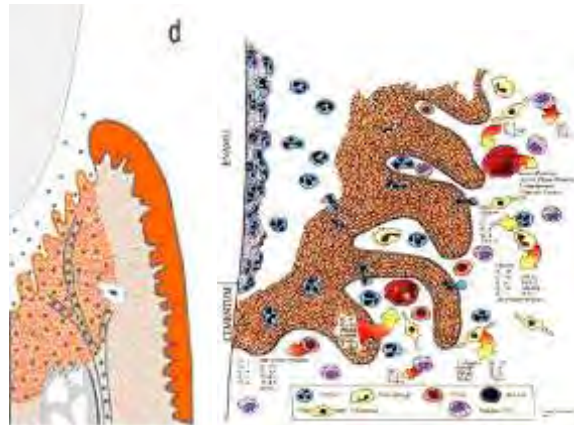
En esta etapa el epitelio de la bolsa no está adherido a la superficie y tiene una fuerte infiltración leucocitaria. Parecen existir dos tipos de lesión establecidas, una que se mantiene estable y no progresa por meses o años y otra que se hace más activa y se convierte en lesiones periodontales destructivas. (25) (Figura 16).



**Figura 16. Lesión gingival establecida y Sucesos clínicos e histopatológicos de la lesión** En la lesión establecida se ven grandes cantidades de células plasmáticas maduras situados primariamente en los tejidos conectivos coronarios, así como en torno de los vasos, la pérdida de colágeno continua al expandirse el infiltrado inflamatorio. (32)

#### 9.4 Lesión gingival avanzada

En esta lesión la placa continúa su crecimiento en profundidad, el infiltrado de células inflamatorias, principalmente células plasmáticas, se extiende lateralmente y más apicalmente en los tejidos conectivos. La lesión ya no está localizada y el infiltrado celular inflamatorio se extiende lateral y apicalmente en el tejido conectivo. (25) (Figura 17)



**Figura 17. Lesión gingival avanzada y Sucesos clínicos e histopatológicos de la lesión. .** La lesión avanzada tiene todas las características de la lesión establecida pero difiere en que existe pérdida de hueso alveolar, el daño a las fibras es amplio, el epitelio de unión migra apicalmente desde el límite cemento adamantino y hay amplias manifestaciones de lesión tisular inflamatoria e inmunopatológica. (32)



## 10. CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

Células fagocíticas como neutrófilos y macrófagos constituyen la primera línea de defensa contra las infecciones bacterianas. Los neutrófilos han sido descritos como las células más importantes en la enfermedad periodontal ya que existen evidencias que en pacientes con enfermedades con déficit de neutrófilos como la neutropenia cíclica, síndrome de Chediak-Higashi o síndrome de deficiencia de adhesión leucocitaria tienen un incremento en la susceptibilidad a tener destrucción periodontal. (26)

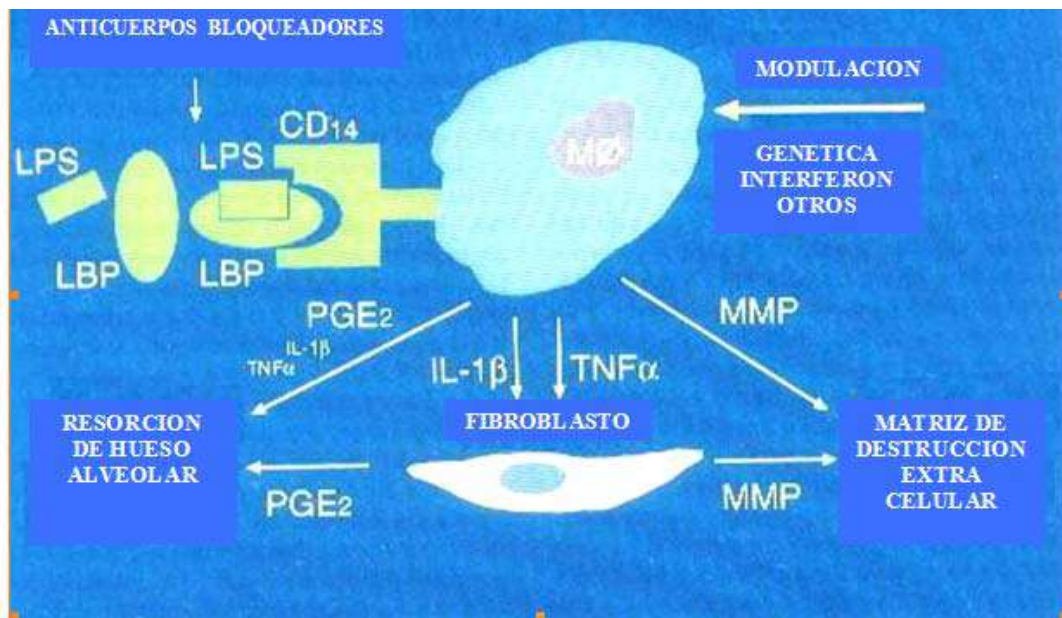
La función más importante de los neutrófilos es la fagocitosis y muerte de los microorganismos. En el surco gingival los neutrófilos forman una barrera entre el epitelio y la placa que previene la invasión bacteriana hacia el epitelio y daño al tejido conectivo. Los neutrófilos pueden minimizar los efectos destructivos. Sin embargo bacterias como *P. gingivalis* tienen el poder de evadir la respuesta inmune innata. *P. gingivalis* no estimula la expresión de la E-selectina sobre la superficie de la célula endotelial para de esta manera inhibir la migración de neutrófilos hacia la circulación de los tejidos. *P. gingivalis* induce bloqueo de la migración de neutrófilos hacia el epitelio oral por el bloqueo en la producción de IL-8. Además *P. gingivalis* produce proteasas que pueden clivar el complemento y las inmunoglobulinas. Previniendo la opsonización y la subsiguiente muerte del neutrófilo que ha fagocitado la bacteria. (12)

Además de procesar los antígenos para la activación del sistema inmune específico, los neutrófilos dentro de los tejidos secretan varias citoquinas en respuesta a los antígenos. Estas citoquinas tienen varias funciones: inducir inflamación, daño del tejido y amplificación de la respuesta inmune específica.

El daño del tejido puede ocurrir directamente por el neutrófilo que secreta enzimas o indirectamente por la estimulación por parte de las enzimas a células como el fibroblasto. Además, las citoquinas producidas por el neutrófilo como IL-1 $\beta$  y PGE<sub>2</sub> promueven el daño del hueso. (27)

La histopatología de la gingivitis establecida en adultos muestra un predominio de células plasmáticas. Estos hechos pueden llevar a la confirmación de la hipótesis de que el evento crítico de la progresión de la periodontitis es la conversión de lesiones con predominio de células T hacia un predominio de células B en lesiones más avanzadas. (28)

El LPS de *P. gingivalis* ha sido implicado en la iniciación y desarrollo de la enfermedad periodontal, ya que se encontró que activa el fibroblasto gingival humano vía CD14 e induce la secreción de IL-6, citoquina que estimula al osteoclasto para producir la reabsorción ósea y de moléculas de adhesión, conduciendo a la pérdida del soporte dentario, pero de forma especial con el TLR-4 y con el antígeno de membrana CD14 presentes en monocitos/macrófagos, neutrófilos y actualmente descubierto en células dendríticas, permitiendo la maduración y la activación de esas células presentadoras de antígeno. (29) (30) (Figura 33)



**Figura 18: Resumen de la Respuesta Inmune Innata en la enfermedad periodontal.** A través de los avances, se ha demostrado que la porción lípido A de la molécula es el principio activo del LPS, al cual se le atribuye su función. Esta actúa directamente a través del TLR4 presente en las células. Otra molécula inductora de fiebre que puede inducir tolerancia es la MDP (dipéptido muramil sintético), el cual actúa directamente en el TLR2. Este último receptor también actúa con lipoproteínas y peptidoglicanos de la bacteria. Receptores como TLR5 se activan frente a la flagelina bacteriana y el TLR9 por el DNA. (18) (33)

El receptor TLR 4 es el encargado de reconocer LPS suprimiendo la función de estos y estimulando la producción de citosinas para iniciar una respuesta de defensa. (23)

Los TLRs 2 y 4 en tejidos gingivales en pacientes con periodontitis son factores importantes en la respuesta del sistema inmune innato pues actúan mediante señales de los productos bacterianos relacionados con la reacción inflamatoria y son expresados en altos niveles de lipopolisacáridos (endotoxinas expuestas al romperse la pared de las bacterias). (23)

Si la enfermedad periodontal avanza al siguiente estadio llamado periodontitis se presenta un infiltrado inflamatorio más extenso predominando los linfocitos B y células plasmáticas junto a un alto nivel de mediadores inflamatorios y numerosas bacterias anaerobias gram negativas en la placa subgingival. (23)

El periodonto normal responde a bacterias por medio de receptores TLRs señalando y manteniendo la homeostasis en las células del epitelio gingival expresan principalmente TLR 2, 6, 9 y 4 en bajas concentraciones. (23)

Los fibroblastos gingivales son los principales constituyentes del tejido conjuntivo en el periodonto, estos se encargan de mantener íntegros los tejidos, regulan la producción de colágeno y proteoglucanos, producen varias citosinas inflamatorias como interleucina 1, 6 y 8 por estimulación de las bacterias y sus componentes, constitutivamente expresan RNAm del TLR 2, 4 y 9 en el ligamento periodontal se expresa el RNAm del TLR 2 y 4. (23)

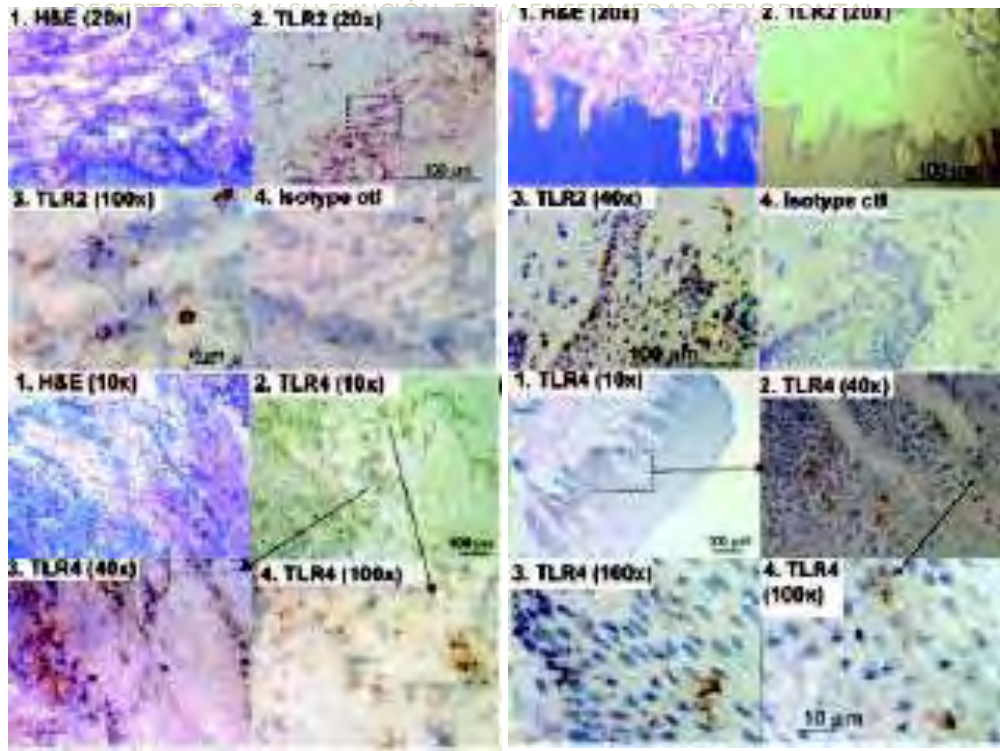
El cemento es un tejido celular mineralizado que cubre la superficie radicular; en periodontitis puede estar invadido de biopelícula formada de muchas bacterias gram negativas altamente patógenas; han demostrado que los cementoblastos expresan TLR 2 y 4 al ligarse al lipopolisacárido de *P. gingivalis*. (23)

El TLR 4 y 9 inducen la activación del factor nuclear el cual inhibe la formación de osteoblastos, célula que se encarga de formar hueso y que juega un papel importante en la modulación y diferenciación así como en la activación de osteoclastos esto sugiere que con la presencia de receptores TLR en ambas células estas pueden responder directamente a productos bacterianos concluyendo con la estimulación de resorción de hueso. (23)

Los TLR en periodontitis crónica estimulan los tejidos del periodonto y conducen a la excesiva producción de mediadores pro-inflamatorios provocando la destrucción periodontal. (23)

La diferencia entre las composiciones microbianas en gingivitis y periodontitis puede influenciar la respuesta local inflamatoria. Los microorganismos periodontales que encontramos con más frecuencia en las bolsas profundas en pacientes con periodontitis son, *P. gingivalis*, *Actinobacillus*, *Actinomycetecomitans*, y *Tannerella forsythia* estas se reorganizan lo que aumenta su virulencia. (23)

Mori y cols. Utilizando métodos inmunohistoquímicos analizan la maduración y diferenciación de los TLRs en pacientes con periodontitis crónica; reportaron por primera vez la presencia de dichos receptores en células del periodonto humano, así como que la proporción de la expresión positiva del TLR 2 es significativamente mayor en zonas de enfermedad periodontal severa en relación con otros receptores TLRs. (23) (Figura 19)



**Figura 19. Infiltrado de células expresando TLR2 y TLR4 por inmunohistoquímica.** Cortes de tejido gingival interproximal de pacientes con periodontitis crónica (dos primeras columnas) y pacientes con tejido gingival sano (dos últimas columnas). Los receptores TLR2 y TLR4 como en este ejemplo, pueden ser identificados y cuantificados, después de colocar al tejido fijado a una placa de vidrio, anticuerpos monoclonales específicos marcados con una enzima (peroxidasa ó fosfatasa alcalina), capaz de convertir sustratos incoloros en sustancias insolubles coloreadas que precipitan en el lugar donde se encuentra la enzima. Una vez revelada y contrastada la placa, con ayuda de un microscopio óptico convencional se puede identificar el receptor celular. (34)

## 11. CONCLUSIONES

- Existe una constante interacción entre el sistema inmune innato y el adaptativo que lleva a una respuesta inmune protectora contra patógenos que contribuye a la discriminación entre lo propio y lo no propio.
- Los componentes humorales de la respuesta inmune innata que puede ser activado a partir del encuentro con el peridontopatógeno por las tres vías, clásica, alternativa y de las lectinas.
- Los receptores tipo Toll contribuyen a la generación y desarrollo de los procesos autoinmunes
- La terapia con los receptores tipo Toll y sus vías, es la capacidad selectiva que pudieran tener estos nuevos fármacos, de manera que se pueda brindar una regulación de la respuesta autoinmune patogénica afectando lo menos posible la respuesta inmunológica del paciente contra los microorganismos.
- Los TLR's son proteínas transmembrana altamente conservadas a través de la evolución presente en animales invertebrados hasta los vertebrados más evolucionados como el hombre. Desempeñan tres funciones básicas frente a la respuesta inmune innata detectando la presencia y logrando diferenciar al patógeno, generando de manera rápida una respuesta.
- Los microorganismos presentes en cavidad oral como *P. gingivalis*, presentan en su estructura factores de virulencia que desencadenan una respuesta inmune innata por células como los macrófagos, monocitos, neutrófilos, células epiteliales de la mucosa oral y fibroblastos, gracias a la presencia de receptores específicos en la membrana de las mismas, como son el TLR4 y el CD14.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Acad. Dr. Raúl Carrillo-Esper, Inmunidad innata, receptores Toll y sepsis, Cirugía y Cirujanos, volumen 71, número 3, mayo-junio 2003, disponible en: [www.medigraphic.com/pdfs/circir/cc-2003/cc033m.pdf](http://www.medigraphic.com/pdfs/circir/cc-2003/cc033m.pdf)
2. Xiomara Úsuga Perilla, Ana Claudia Ossa Giraldo, Autoinmunidad y receptores tipo Toll, Volumen 25, julio-septiembre 2012, disponible en: [www.redalyc.org/pdf/1805/180523371008.pdf](http://www.redalyc.org/pdf/1805/180523371008.pdf)
3. M. Mesa Villanueva, P. J. Patiño, Receptores tipo Toll: entre el reconocimiento de lo no propio infeccioso y las señales endógenas de peligro, Inmunología, volumen 25, número 2, Abril-Junio 2006, disponible en: [revista.inmunologia.org/Upload/Articles/6/9/694.pdf](http://revista.inmunologia.org/Upload/Articles/6/9/694.pdf)
4. C. Moreno, A. Sánchez-Ibarrola, Receptores tipo Toll: bases moleculares de la relación entre respuestas innatas y adaptativas del sistema inmunitario, respuestas innatas y adaptativas del sistema inmunitario, disponible en: [www.unav.es/revistamedicina/47\\_3/ArticuloRevision3.pdf](http://www.unav.es/revistamedicina/47_3/ArticuloRevision3.pdf)
5. Jesús Merino Pérez y María José Noriega Borge, Fisiología general, tema 7. Receptores específicos de patógenos en la R.I.I las células de alarma en la respuesta inmune.
6. Jesús Merino Pérez y María José Noriega Borge, Fisiología general, tema 4. Respuesta innata I. receptores celulares. PRRs. Factores de transcripción nuclear.
7. Cielo Ruíz López y Gloria Gutiérrez Venegas, Receptores Toll Y Mecanismo De Transducción en la Inmunidad Innata, Laboratorio De Bioquímica, División De Estudios De Posgrado De La Facultad De Odontología, UNAM. Disponible en: [www.uacj.mx/ICB/RedCIB/REB/2003/06/2003-2\\_RECEPTORES .pd f](http://www.uacj.mx/ICB/RedCIB/REB/2003/06/2003-2_RECEPTORES.pdf)
8. Doc Kaiser, Gary E. Kaiser, El sistema inmune innato, patrones asociados a patógenos, los receptores de reconocimiento de patrones y citoquinas importantes en la inmunidad innata, marzo de 2011. Disponible en: <http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/lecguide/unit4/innate/prr.html>
9. WebAcademia conocemos todo, Receptores de reconocimiento de patrones, Moléculas reconocidas, Clasificación, Tipos, Disponible en: [http://centrodeartigos.com/articulos-de-todos-los-temas/article\\_23991.html](http://centrodeartigos.com/articulos-de-todos-los-temas/article_23991.html)
10. Aimée Domínguez Nieto, Alejandro Zentella Dehesa y Juan Raymundo Velázquez Rodríguez, Control molecular de la inflamación: regulación de los receptores tipo Toll, REB.

11. Medzhitov R , Preston-Hurlburt P , E Kopp , Stadlen A , Chen C , Ghosh S , Janeway CA Jr, MyD88 es un adaptador de proteínas en las vías de señalización del receptor de hToll/IL-1 familiares, et al, 1997; et al, 1998. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9734363>
12. Nelly Stella Roa Molina, Respuesta Inmune Innata y Tolerancia Oral Frente a Periodontopatógenos, Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias, Especialización de Laboratorio en Inmunología Clínica, Bogotá, Noviembre 2005.
13. Hjjshengallis G, Sojar H, Genco Rh, Denardin E. 2004. Intracellular signaling and cytokine induction upon interactions of Porphyromonas gingivalis fimbriae with pattern-recognition receptors. Immunological Investigations disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1064972/>
14. Medzhitov et al, 1997; O'Neill y Greene, 1998, Inmunidad Innata y la familia de receptores Toll-like. Disponible en: [http://www.rndsystems.com/cb\\_detail\\_objectname\\_WI00\\_InnatImmunity.aspx](http://www.rndsystems.com/cb_detail_objectname_WI00_InnatImmunity.aspx)
15. Inmunofisiología Tema 10: Sistema Inmune Innato- Segunda parte. Disponible en: [www.ciencias.ula.ve/.../if\\_tema10\\_inmunidadinnata\\_respuestainducida](http://www.ciencias.ula.ve/.../if_tema10_inmunidadinnata_respuestainducida)
16. Poltorak y col, 1998.; Qureshi et al., 1999. The journal of Neuroscience, 1 de abril de 2002, 22 (7), 2478-2486. El Toll-like receptor TLR4 es necesario para lipopolisacáridos, Departamento de Neurología, Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston, Massachusetts 02115, 2 Departamento de Neurología, Hospital de Niños y el Programa de Neurociencia de la Facultad de Medicina de Harvard, Boston, Massachusetts.
17. Medzhitov, 2001. Toll-like receptors and innate immunity. Nat Rev Immunol. 2001 Nov; 1(2):135-45. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11905821>
18. Karol Guzmán Masías, la inmunidad innata y los receptores tipo Toll (TLR's), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, 2010.
19. Uematsu y Akira, J Mol Med (Berl). Toll-like receptors and innate immunity. Department of Host Defense, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Yamada-oka, Suita Osaka, Japan. 2006 Sep
20. Lisbeth Berrueta, Fisiología de la RI: Inmunidad Innata, Premio Nobel en Fisiología y Medicina IDIC-ULA 2009. Disponible en: [www.medic.ula.ve/idic/docs/clases/iahula/curso\\_2012/tema3.PDF](http://www.medic.ula.ve/idic/docs/clases/iahula/curso_2012/tema3.PDF)



21. María Angélica Marinovic M. Receptores de Tipo Toll y su Implicancia en Autoinmunidad, Reumatología 2005.
22. Lilia Surya Martínez Reculez. Estudio de asociación entre polimorfismos de los genes tlr2 y tlr8 y susceptibilidad a tuberculosis pulmonar en pacientes mexicanos del INER. (Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias de la salud). México D.F. Noviembre 2011.
23. Wang, P. L., Azuma, Y., Shinohara, M. & Ohura, K. Toll-like receptor 4-mediated signal pathway induced by Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide in human gingival fibroblasts. Biochemical and Biophysical Research Communications (2000).
24. Monserrat Miranda Macedo. Periodontitis e Inmunidad Innata (Tesina para obtener el título de cirujano dentista). México D.F. 2008.
25. Lindhe, J. 2001. Periodontología. 3ª edición. Médica Panamericana
26. Waldrop T, Anderson D, Hallmon William W, Schmalstieg F, Jacobs R. 1987. Periodontal manifestations of the heritable Mac-1, LFA-1, deficiency syndrome. Journal of Periodontology.
27. Dennison D, Van Dyke T. 1997. The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease. Periodontology 2000.
28. Seymour G, Powell Rn, Davies Wir. 1979. Conversion of a stable T-cell lesion to a progressive B-cell lesion in the pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: an hypothesis. Journal Clinical of Periodontology.
29. Alexander C, Rietschel E. 2001. Bacterial Lipopolysaccharides and Innate Immunity. Journal of Endotoxin Research.
30. Hayashi J, Masaka T, Ishikawa I. 1999. Increased levels of Soluble CD14 in Sera of Periodontitis Patients. Infection and Immunity.
31. Bainbridge B, Darveau R. 2001. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide: an unusual pattern recognition receptor ligand for the innate host defense system. Acta Odontológica Scandinávica.
32. Kornman K, Page RC, Tonetti MS. 1997. The host response to the microbial challenge in periodontitis: Assembling the players. Periodontology 2000.
33. Page R, Offenbacher S, Schroeder H, Seymour G and Korman k. 1997. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. Periodontology 2000.
34. Muthukuru M, Jotwani R, Cutler C. 2005. Oral Mucosal Endotoxin Tolerance induction in Chronic Periodontitis. Infection and Immunity.

### 13. GLOSARIO

- **Ácido teicoico:** son polímeros de glicerol unidos mediante enlaces fosfodiéster. Estos ácidos se encuentran en la pared celular de las bacterias Gram-positivas.
- **ADN:** ácido desoxirribonucleico
- **APC:** células presentadoras de antígeno
- **ARN o RNA:** ácido ribonucleico
- **B7:** moléculas co-estimuladoras
- **Bacterias Gram positivas:** aquellas bacterias que se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram
- **Hemaglutinina (HA):** es una glucoproteína antigénica que se encuentra en la superficie del virus de la gripe y es la responsable de la unión del virus a la célula infectada.
- **IgE:** inmunoglobulina E
- **IL1:** interleucina-1
- **IL12:** interleucina-12
- **IL6:** interleucina-6
- **LBP:** proteína de unión de LPS
- **LPS:** lipopolisacárido
- **LRR:** repetición rica en leucina, proteína estructural que forma una herradura  $\alpha/\beta$ .
- **Manosa:** es un azúcar simple o monosacárido que se encuentra formando parte de algunos polisacáridos de las plantas y en algunas glucoproteínas animales.
- **MBL:** Mannan Binding Lectins
- **Mitógenos:** son factores que actúan en el ciclo celular estimulando la división celular.
- **MyD88:** factor de diferenciación mieloide 88
- **NFkB:** factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas

- **Nod:** nucleotide-binding oligomerization domain
- **Opsonización:** es el proceso por el que se marca a un patógeno para su ingestión y destrucción por un fagocito.
- ***P. gingivalis:*** *Porphyromonas gingivalis*, bacteria anaerobia Gram negativa implicada en la enfermedad periodontal.
- **PAMPs:** patrones moleculares asociados a patógenos
- **PRR:** receptores de reconocimiento de patrones
- **RTT:** receptores tipo Toll
- **TIR:** dominio TLR/IL-1, dominio intracelular que juega un papel crucial en las respuestas inmunitarias, a través de la transducción de señales.
- **TLR:** receptores similares a Toll, representan una familia de receptores conservada que funcionan para el reconocimiento de la respuesta inmunológica innata.
- **TNF:** factor de necrosis tumoral