

Los receptores tipo Toll: “los ojos de la inmunidad innata”

Los receptores tipo Toll: “los ojos de la inmunidad innata”

Ximena Hormaza

RESUMEN

Los receptores tipo *toll* son una familia de proteínas recientemente descubiertas, con propiedades importantes en la inmunidad innata como son el reconocimiento de estructuras moleculares conservadas asociadas con los microorganismos. Esta revisión trata aspectos de la función de los receptores tipo *toll* y sus aplicaciones en dermatología.

Palabras clave: receptores tipo *toll*, TLR, inmunidad innata.

Abreviaturas importantes

TLR: receptores tipo *toll*.

RRP: receptores de reconocimiento de patrón.

PAMP: patrones moleculares asociados a patógenos.

NK: célula *natural killer*.

HSP: proteínas de choque térmico.

INTRODUCCIÓN

El mecanismo inmunológico responsable de actuar contra las infecciones tiene dos etapas: la inmunidad innata, que se produce en las primeras horas de exposición a un patógeno, es determinada genéticamente y se realiza por células dendríticas, macrófagos, leucocitos polimorfonucleares, células *natural killer* o citocidas y células mastocíticas, que responden en forma rápida a microorganismos a través del reconocimiento de los llamados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), y se diferencian hacia células efectoras de vida corta.¹ Posteriormente la inmunidad adaptativa se activa a los cuatro a siete días, reconoce las

moléculas patógenas por medio de receptores antigénicos para células T y B y genera activación y proliferación de células T de memoria, con producción de inmunoglobulinas y receptores de células T. La inmunidad innata, a través de las células presentadoras de antígenos (células dendríticas), alerta a la inmunidad adaptativa sobre la presencia de patógenos y dispara la expresión de moléculas como citoquinas, quimioquinas y coestimuladoras CD80 y CD86 en su superficie.¹⁻³

Las células de la inmunidad innata poseen diferentes tipos de receptores capaces de interactuar con los patógenos o sustancias propias de ellos; entre estos receptores se encuentra la familia de receptores tipo *toll* (TLR), recientemente identificada, que tiene un papel importante en la detección microbiana en mamíferos e insectos. Estos receptores reconocen los PAMP y activan vías de señalización que inducen genes antimicrobianos y citoquinas proinflamatorias.^{1,3} Se han logrado avances en su aplicación en la inmunología de diferentes enfermedades infecciosas y no infecciosas.

HISTORIA

El grupo de Charles A. Janeway y Ruslan Medzhitov desarrolló la hipótesis de los patrones de reconocimiento, que plantea la existencia de unos receptores de reconocimiento de patrón (PRR) que captan moléculas extrañas propias de los microorganismos. En la búsqueda de estos receptores, Medzhitov y colaboradores, en 1996, encontraron y decodificaron un nuevo gen que codifica un receptor, similar al gen del receptor de la IL-1 y a otro hallado en la mosca de la fruta, estudiado en 1985 por Anderson y colaboradores quienes lo habían llamado *toll* por la palabra alemana que traduce extraordinario. Medzhitov y su grupo postularon que esos receptores funcionan como una vía de reconocimiento de microorganismos y, dada su similitud con el receptor *toll* de la mosca, lo denominaron receptor tipo *toll* (TLR). Posteriormente, Muzio y colaboradores describieron los eventos subsiguientes al reconocimiento del TLR.⁴ En 1996 Lemaitre y colaboradores encontraron que las moscas con defectos en sus genes *toll* eran hipersensibles a las

Ximena Hormaza, RIII Dermatología Universidad del Valle, Cali, Colombia

Correspondencia: Ximena Hormaza, xiho@telesat.com.co

Los receptores tipo Toll: “los ojos de la inmunidad innata”

infecciones por hongos a través de un bloqueo en la síntesis del antimicrobiano drosomicina.^{4,5}

Muchos han seguido estudiando esta interesante vía y sus posibles aplicaciones en el entendimiento de múltiples enfermedades, la producción de péptidos antimicrobianos, la investigación en drogas y vacunas y compuestos para tratamiento del acné, entre otros. Los avances en este campo han sido innumerables y para 2001 se habían encontrado diez receptores tipo *toll*.⁵

El receptor *toll* en la *Drosophila*

El sistema *toll* en la mosca es una familia de ocho receptores transmembrana, muy similar a la vía de la IL-1 en el humano. El receptor *toll* activa una serie de eventos que terminan en la producción del péptido antifúngico drosomicina.^{6,7}

Esta vía tiene la participación de proteínas adaptadoras que activan o desactivan procesos, como la proteína de diferenciación mielóide de la *Drosophilla* (DmMyD88). Las investigaciones han llevado a concluir que las vías de señalización y los genes de la *Drosophilla* son homólogos o muy similares a los de la respuesta innata de los mamíferos.^{6,7}

La inmunidad innata en los mamíferos y en el hombre

La inmunidad innata se activa inmediatamente después de la entrada de la infección y busca su control rápido me-

dante el reconocimiento de los microorganismos por la detección de sus productos, como lipopolisacáridos (LPS), lipoproteínas de peptidoglicano (PGN) y ácidos lipoteicoicos (LTAs). A estas señales moleculares de la invasión microbiana se las denomina patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). Estas estructuras se conservan inmutables entre microorganismos de una misma especie, lo que permite que sean reconocidos por una misma línea germinal única de “receptores de reconocimiento de patrón” (PRR) del sistema de defensa, y desencadenen una cascada de eventos que conducen a la producción de citoquinas.^{1,2,6} Posteriormente, en 3 a 5 días se inicia la activación y proliferación de células T y B especializadas a través de la llamada selección clonal.⁸

Los PRR se expresan en la superficie celular de macrófagos, células dendríticas y células B y pueden secretarse y expresarse en la superficie celular o localizarse intracelularmente. Estos receptores se codifican por una línea germinal que los hace genéticamente predeterminados y específicos para ciertos organismos. Tienen funciones de opsonización, activación del complemento y de cascadas de coagulación, fagocitosis, activación de vías proinflamatorias y apoptosis.¹⁰ Estos PRR pueden reconocer diferentes tipos de estructuras y algunos de ellos requieren proteínas accesorias para su función.¹⁰

PRR	Ligandos	Funciones
Secretados		
MBL lectina ligadora de manosa	Residuos de manosa terminal	Activa vía lectina del complemento
CRP proteína C reactiva	Fosforilcolina en membrana microbial	Opsonización, activa vía clásica complemento
LBP proteína transportadora de LPS	LPS	Reconoce LPS
Superficie celular		
TLR	Moléculas microbianas	CTQ-IA
CD14	LPS, peptidoglicano	Correceptor TLR
Receptor manosa macrófago	Residuos manosa terminal	Fagocitosis
Receptor macrófago removedores de basura	LPS, LDL	Fagocitosis y homeostasis de lípidos
Receptor de macrófago con estructura colagenosa (Marco)	Pared célula bacteriana	Fagocitosis

CTQ : citoquinas; IA: inmunidad adaptativa; LPS: lipopolisacáridos.

Cuadro 1. Receptores de Reconocimiento de Patrón. Adaptado de: Medzhitov R, Janeway C. Innate Immunity. *New Eng J Med* 2000; 343:338-344.

Los receptores tipo Toll: "los ojos de la inmunidad innata"

Los PRR más importantes se describen en el Cuadro 1 y entre ellos se encuentran los TLR.

Receptores tipo toll

Son parte de una familia de receptores de reconocimiento de patrón (PRR) ubicados en la superficie de las células de defensa, importantes en la inmunidad innata para la identificación de patógenos. La estructura de estos receptores transmembrana está compuesta por un dominio extracelular rico en leucina (LRR) y uno intracelular Toll/IL-1 receptor (TIR), muy semejante al receptor de IL-1 (IL-1-R). Se han descrito hasta ahora diez TLR en humanos y ratones que difieren en su especificidad, su expresión y su gen blanco. Los diez TLR se numeran de TLR1 al TLR10.⁶ Los genes que codifican estos receptores se localizan en los cromosomas 1,3, 4, 9, 1 y X.

Estos receptores pueden trabajar solos o en parejas como heterodímeros, combinaciones que los hacen más eficaces para distinguir una amplia variedad de microorganismos. Una vez estimulado el TLR se inicia una cascada de eventos que terminan en la activación del factor de transcripción NF- κ B, que se encuentra secuestrado en el citoplasma por el I- κ B; al ser fosforilado y liberado se separa del complejo, migra al núcleo y participa en la transcripción de genes productores de proteínas que componen las citoquinas, defensinas, proteinkininas activadas por estrés como la MAPK, estimula el mitógeno p38 y la kinsa N terminal c-Jun. Esta inducción de genes por parte de los TLR codifica:

- Citoquinas proinflamatorias como TNF α , IL-12 e IL-8.
- Péptidos antimicrobianos.
- Moléculas coestimuladoras B7-1 (CD80).
- Moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad.
- Sintasa de óxido nítrico.

Los TLR están en distintos tipos celulares como monocitos, macrófagos, mastocitos y células dendríticas (CD). Las CD mieloides expresan TLR 1, 2, 4, 5 y 8 y las CD plasmocitoides expresan TLR7 y 9, con producción de gran cantidad de IFN- α . De acuerdo con el grado de madurez celular, las CD inmadu-

ras expresan TLR1, 2, 4 y 5 y las maduras, TLR3.⁶ Además de estar en células de la inmunidad, estos receptores también se encuentran en las células de los epitelios intestinal, renal, pulmonar y corneal, en el endotelio, y en los queratinocitos.⁹

La regulación de la expresión de los TLR se modula por factores como la invasión microbiana, los componentes microbianos, y citoquinas como el factor 1 estimulante de colonias, el factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF), el IFN α , la IL-2, la IL-15 y la IL1.^{8,10} Existe también un sistema de regulación de la expresión de los TLR; en este caso, la quinasa fosfoinositide 3 (PI3K) es un supresor endógeno de la IL-12, actúa en fases tempranas de la señalización de los TLR y tiene como objetivo prevenir el exceso de inmunidad innata.¹¹

Los tipos de TLR más estudiados, junto con sus respectivos PAMP, se describen en la Figura 1.

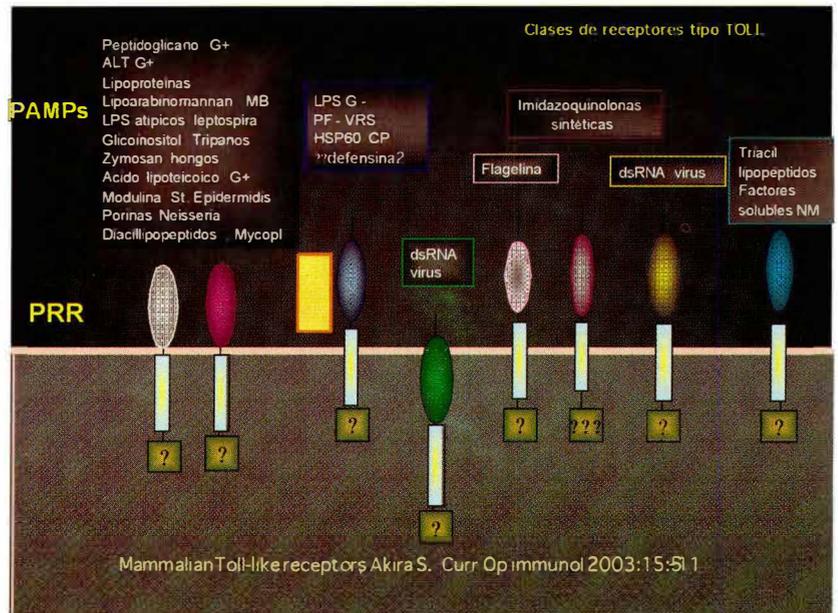


Figura 1. Clases de receptores tipo toll. Cada receptor tipo toll tiene sus respectivos PAMP con los que interactúa. G+: gram positivos; ALT: ácido lipoteicoico; MB: micobacteria; LPS: lipopolisacáridos; tripanos: tripanosomas; St epidermidis: Staphilococo epidermidis; PF-VRS: proteína de fusión virus respiratorio sincitial; HSP60 CP: proteína de choque térmico de Chlamydia pneumoniae; ds RNA: RNA de doble cadena; NM: Neisseria meningitidis. Modificado de: Akira S. Mammalian Toll-like receptors Curr Opin Immunol. 2003; 15:5-11.

Los receptores tipo Toll: “los ojos de la inmunidad innata”

TLR4

Fue el primer TLR en ser descubierto y es el más estudiado; induce la expresión de citoquinas inflamatorias y del coestimulante B7 en los macrófagos y en células dendríticas, en respuesta al lipopolisacárido (LPS) de bacterias gram negativas y otros patrones moleculares asociados a microorganismos, como la proteína de fusión del virus respiratorio sincitial. El reconocimiento de LPS por el TLR4 requiere moléculas accesorias que los otros TLR no usan. Inicialmente el LPS se asocia a proteínas transportadoras de lipopolisacáridos (LBP), luego este complejo es reconocido por CD14, molécula expresada en la superficie de monocitos y macrófagos. Otro componente que actúa es el MD2, una proteína accesoria transmembrana que se expresa en la superficie celular, aumenta la respuesta al LPS y es esencial en la distribución intracelular del TLR4. El complejo que se forma entre TLR4 y MD2 se traslada del retículo endoplasmático a la superficie celular.

Otros ligandos reconocidos por el TLR4 son endógenos como las proteínas de choque térmico (HSP), cuya síntesis aumenta con eventos estresantes como choque térmico, radiación ultravioleta e infección por bacterias y virus. Las HSP activan macrófagos y células dendríticas para secretar citoquinas proinflamatorias y expresar moléculas coestimuladoras. Se considera que las HSP podrían representar una señal endógena de peligro. La proteína de choque térmico 60 (HSP60) es la que mejor se conoce; su acción está mediada por el TLR4 y se involucra en la inflamación que acompaña la arteriosclerosis, cuya aparición se relacionó con la infección por *Chlamydia pneumoniae*.⁶

Otras sustancias generadas en respuesta al daño tisular que parecen importantes en el proceso de remodelación tisular, como la fibronectina, el ácido hialurónico y el heparán sulfato, se involucran con el TLR4. La activación de las células dendríticas por el ácido hialurónico es mediada por TLR4. Los depósitos de fibrina extravascular, derivados del fibrinógeno plasmático, son marcadores de inflamación en el contexto de daño, infección y trastornos inmunológicos. La capacidad del fibrinógeno de inducir producción de quemoquinas por los macrófagos parece estar mediada por el TLR4; éste es un efecto claro en el cual el TLR4 desencadena respuestas inflamatorias frente a ligandos endógenos sin la presencia de infección.^{2,6,12}

TLR2

Parece ser exclusivo de células presentadoras de antígeno y células endoteliales, y reconoce una amplia varie-

dad de ligandos.¹⁰ (Figura 2). Actúa solo o formando heterodímeros con el TLR6 para reconocer lipopéptidos activadores de macrófagos del micoplasma (MALP). También puede responder a péptidos endógenos como la proteína de choque térmico 70 (HSP70).⁶

TLR3

Tienen alta afinidad por el dsRNA, producto resultante del ciclo de replicación viral en las células. El dsRNA es un inductor importante de IFN- α y β , los cuales tienen funciones antivirales e inmunoestimuladoras. Es muy importante en la unión al LPS, tiene una función crucial y se expresa de modo predominante en las células dendríticas maduras.⁶

TLR5

Reconoce la flagelina, potente factor proinflamatorio de bacterias gram negativas con flagelos, que se expresa en el epitelio basal. La flagelina no se asocia con propiedades patógenas, pero es esencial para la viabilidad de la bacteria. El TLR5 se expresa en la superficie basolateral del epitelio intestinal, donde se activa sólo cuando el microorganismo atraviesa la mucosa.^{6,10}

TLR9

Fue descubierto por Shizuo Akira, de la Universidad de Osaka. Reconoce motivos CpG (dinucleótido deoxiguanosil deoxicidil no metilado) del DNA bacteriano y viral, y dispara la respuesta ante ellos. Las cascadas de señalización inducidas por el ADN CpG, como la de la quinasa c-Jun y del NF- κ B, son eventos tardíos en comparación con la activación de macrófagos normales por LPS. La unión del TLR9 con el ADN CpG ocurre en el compartimento intracelular; la producción de un anticuerpo monoclonal anti TLR9 confirma su localización intracelular, a diferencia de LTR1, LTR2 y LTR4 que se localizan en la superficie de las células.¹⁰

TLR7

Los ligandos naturales de este receptor aún son desconocidos, aunque se sabe que junto con TLR8 y TLR9 participan en la discriminación de moléculas tipo ácido nucleico de microorganismos. El TLR7 reconoce unos compuestos llamados imidazoquinolinas, como el imiquimod (R837 ó S26308), y su análogo el resiquimod (R848). Estas sustancias tienen funciones antitumorales y antivirales; el imiqui-

Los receptores tipo Toll: "los ojos de la inmunidad innata"

mod tiene la capacidad de inducir IFN γ e IL-12. El TLR7 también interactúa con otros inmunomoduladores sintéticos antitumorales como la loxoribina y el bropirimine, que tienen actividad sobre la célula *natural killer*, y promueven la producción de citoquinas.⁹

TLR1

Asociado con el TLR2, es importante en la identificación de los triacil lipopéptidos y lipoproteínas de micobacterias, factores solubles de la *N. meningitidis* y en el reconocimiento de lipoproteínas de la superficie externa de la *B. burgdorferi*. Por ser homólogo con el TLR6, su deficiencia puede compensarse con éste.^{6,10}

TLR10

Existe un décimo receptor tipo *toll* compuesto de 811 aminoácidos. Se conoce poco con qué ligandos interactúa.¹³

Vías de señalamiento de los TLR

Las moléculas de señalamiento que usan los TLR llevan a la inducción de genes en el huésped para la producción de ARN, útil en el ensamblaje de proteínas que componen las citoquinas y los péptidos antimicrobianos. Luego de la activación del TLR se dispara un circuito que usa tres componentes importantes: (Figura 2).

- MyD88 (proteína adaptadora de diferenciación mieloide).
- Complejo IRAK (kinasa asociada con IL-1R).
- TRAF6 (factor 6 asociado con el receptor TNF).

MYD88

Juega un papel muy importante en la respuesta a IL-1, LPS, peptidoglicano, CpG DNA, dsRNA e imidazoquinolinas. Los ratones con deficiencia de esta proteína muestran una alta susceptibilidad a infecciones por *S. aureus*.

Contiene un dominio carboxilo (TIR) que se asocia con el TIR del TLR y uno de muerte amino-terminal que interactúa con el dominio de muerte de IRAK.

Existen señales que no utilizan MyD88 para el reconocimiento de los PAMP, como la que utili-

za TIRAP (proteína adaptadora que contiene el dominio TIR), TICAM-1 o TRIF molécula 1 adaptadora que contiene el dominio del receptor TIR y Tollip (proteína de interacción del *toll*).^{6,12}

Complejo IRAK

El MyD88 se asocia con IRAK, kinasa asociada con el receptor de IL. El complejo IRAK es una familia compuesta por cuatro kinasas, que interviene en la activación del NF- κ B y la proteína kinasa activadora de mitógeno. La primera en activarse es IRAK4 y lleva a la hiperfosforilación de IRAK-1, que interacciona con TRAF6.^{2,6}

TRAF6

Es un componente indispensable en la señalización de TLR4 y de IL-1R. Produce la activación de TAK1 (kinasa activadora del TGF- β) y MKK6 (kinasa 6 de la proteína kinasa activadora del mitógeno), las cuales activan el NF- κ B, la JNK (kinasa N terminal c-Jun) y la p38 MAP kinasa.

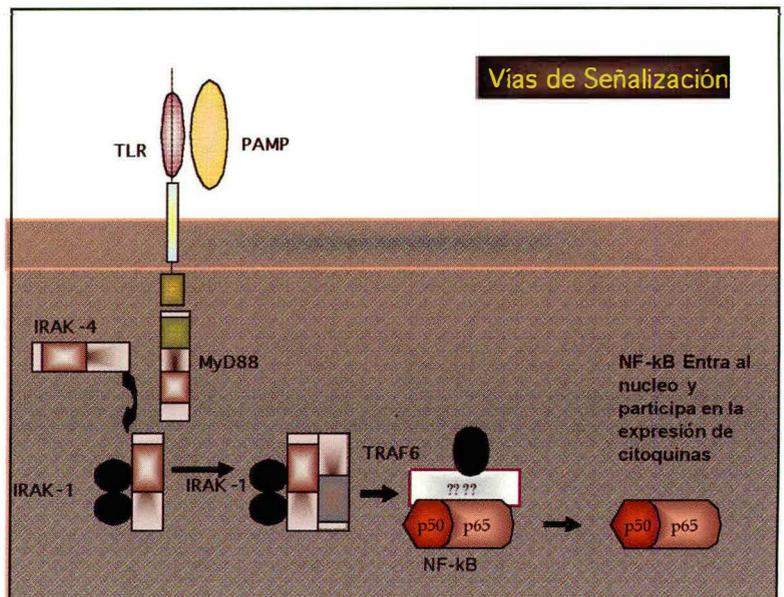


Figura 2. Vías de señalización de los receptores tipo toll. Esta cascada de señales finalmente resulta en que el TRAF6 favorece la fosforilación del I κ B y permite que una molécula de ubiquitina posibilite la liberación del Factor Nuclear κ B (NF- κ B) y su entrada al núcleo para participar en el ensamblaje de genes de citoquinas.

Factores de transcripción activados en la vía de los TLR

1. Factor de transcripción nuclear (NF- κ B): factor crucial en la transcripción de los genes de cadenas livianas de inmunoglobulinas en las células B. Se expresa en múltiples células, entre ellas las células dendríticas, cuya función y desarrollo están finamente regulados por distintas subunidades del NF- κ B. Además de los productos bacterianos, los oxidantes, los virus y la radiación UV, son activadores del NF- κ B.
2. Proteína activadora 1 (AP-1): es una familia de factores de transcripción que consiste en homodímeros y dímeros de las familias Jun y Fos. Su actividad se regula mediante fosforilación de las quinasas MAP, JNK y ERK.⁶
3. NF-IL6: es otro factor de transcripción con dominios básicos y con leucina. Se une específicamente a un elemento de respuesta en el promotor del gen de IL-6. El NF-IL6 se activa por fosforilación en respuesta a estímulos inflamatorios e interviene en las respuestas de los macrófagos. Los ratones deficientes de NF-IL6 son incapaces de destruir *Listeria monocytogenes*.⁶
4. Familia IRF de factores de transcripción: está integrada por nueve miembros que son reguladores críticos de las respuestas inmunes innatas. La infección viral induce fuertemente su expresión. Los macrófagos de ratones deficientes en IRF-1 tienen alteración de la inducción de IL-12 y de sintasa de óxido nítrico inducible en respuesta a LPS.⁶
5. Se ha descubierto recientemente una nueva proteína citoplasmática implicada en la activación de la caspasa 1 por los TLR durante la respuesta a la infección microbiana; se la llamó NALP y forma un complejo multiproteico, el inflasoma, que induce la activación de esta vía.¹⁴

Control de la inmunidad adaptativa

Las células dendríticas inmaduras de tejidos periféricos se encuentran con el antígeno a través de los TLR. La maduración celular dendrítica activa la producción de moléculas coestimuladoras (CD80 y CD86), el procesamiento antigénico, el incremento del complejo mayor de histocompatibilidad y la migración de la CD a nódulos linfáticos, donde se une a células T y se activa la inmunidad adaptativa. Las células dendríticas y los macrófagos expresan IL-12, citoquina proinflamatoria que estimula la producción de IFN γ , el paso de inmunidad Th a Th1 de células T y articula la inmunidad innata con la adaptativa.⁶ El efecto sobre inmunidad Th2 no se ha demostrado. La producción de IL-12 depende de varios factores, entre los que están la regu-

lación y expresión de genes, la expresión de los TLR, y la regulación entre las CD y citoquinas como IL-10 e IFN γ .^{15,16}

RECEPTORES TIPO TOLL EN DERMATOLOGÍA

La dermatología se ha beneficiado por los avances en el conocimiento sobre los TLR y sus vías de señalización, pues se han generado importantes investigaciones sobre sus aplicaciones en diferentes enfermedades cutáneas.¹² También se han logrado avances en el entendimiento de los mecanismos inmunes y en las terapias de enfermedades infecciosas, autoinmunes e inflamatorias.¹⁷

La aplicación de los conocimientos sobre los TLR es muy amplia; va desde lo relacionado con los fenómenos de sepsis, choque séptico, enfermedades infecciosas y enfermedades autoinmunes, hasta la elaboración de sustancias antivirales y antitumorales, entre otras.¹⁷

1. Enfermedades por hongos

Los neutrófilos y macrófagos asumen la respuesta inmune frente a infecciones micóticas, mediante la liberación de sustancias fungicidas como productos intermedios reactivos de oxígeno y enzimas lisosómicas, y fagocitosis.¹⁸ La infección por *Cándida albicans* y *Aspergillus fumigatus* implica una respuesta inmune donde participan los TLR2 y TLR4. La *C. Albicans* induce inmunoestimulación a través de agentes como el glicopéptido mannan o estructuras derivadas como lipofosfomanan, que son reconocidos como PAMP de la pared celular del hongo. Factores de virulencia de la *C. Albicans*, como la proteinasa aspártica, estimulan los TLR. Por otra parte, el *Criptococo neoformans* se reconoce mediante un proceso que usa TLR4.¹⁹

2. Leishmaniasis

En la leishmaniasis se ha demostrado que los TLR responden a patrones moleculares del parásito. Los TLR2 de la célula NK son activados por el lipofosfoglicano de la pared del microorganismo. La *Leishmania* regula tanto el mRNA, como la expresión del TLR2 en las células NK; también activa la síntesis de IFN γ y TNF α y la traslocación nuclear de NF- κ B y produce la respuesta inmune frente al parásito.²⁰ En trabajos experimentales se comprobó que la ausencia de MyD88 inhibe la maduración de células dendríticas en la infección por *Leishmania*.^{21,22}

Los receptores tipo Toll: "los ojos de la inmunidad innata"

El CpG DNA es un patrón molecular que activa los TLR9 de células inmunes y actúa en la protección contra patógenos intracelulares;²³ tiene un valor terapéutico promisorio como agente adyuvante y antiinfeccioso. La administración experimental de oligodesoxinucleótidos sintéticos con secuencias CpG no metiladas, que actúan como PAMP y se unen a los TLR, activan las células del sistema inmune, y brindan protección contra la infección por *Leishmania major* y *Listeria monocytogenes* en ratones.

3. Enfermedades virales

La participación de los TLR en enfermedades de origen viral se ha demostrado en infecciones por virus del herpes simple, cepas atenuadas de sarampión y retrovirus, entre otros. Ante una infección viral varios componentes proteicos y genéticos se diseminan en el cuerpo y las proteínas virales pueden ser capturadas por células dendríticas inmaduras, que se maduran a través de la vía de los TLR. El ácido poliribocitidil de los virus interactúa con los TLR3 e induce IFN tipo 1, y desencadena así la inmunidad celular específica contra el virus por los linfocitos T citotóxicos.²⁴

En un estudio experimental en ratones se observó que infecciones por retrovirus activan las células B a través de la vía de los TLR4.²⁵ Se ha demostrado el papel de los TLR, en especial de los TLR2, en la respuesta inflamatoria de citoquinas frente al virus del herpes simple tipo 1.²⁶

El estudio de Shkar y colaboradores en el que la administración de CpG DNA, que era reconocido por los TLR9 en la mucosa genital, inhibía la replicación viral exagerada mas no la entrada del virus del herpes simple 2, sugiere que la inducción local de la inmunidad innata mucosa puede dar protección frente a enfermedades de transmisión sexual como el VHS-2 o posiblemente VIH.²⁷

4. Lepra

Se ha investigado también la participación de los TLR en la infección por *Mycobacterium leprae*. Krutzik y colaboradores observaron cómo los TLR2 y TLR1 median la activación celular contra el *M. leprae* por el homodímero TLR2 o el heterodímero TLR2-TLR1. A las lipoproteínas triaciladas se las ha considerado los PAMP de la micobacteria; activan monocitos y células dendríticas. Se han investigado 31 de ellas. La expresión clínica de la enfermedad varía según la respuesta inmune desencadenada; de acuerdo con los resultados obtenidos por Modlin y colaboradores, las lesiones de lepra tuberculoide, donde la respuesta de citoquinas es de tipo 1 (IFN γ , IL-12, IL-18, GM-

CSF), presentaban expresión de TLR2 y TLR1, mientras que las lesiones de lepra lepromatosa, que tiene predominio de citoquinas tipo Th2 con IL-4 e IL-10, tienen disminuida la expresión de TLR2. Los TLR parecen ser cruciales en la defensa contra esta infección, no solo los TLR2 y TLR1, sino también los TLR4. En análisis genéticos de TLR2 se han encontrado polimorfismos en la proteína del dominio de señalización citoplasmática en pacientes con lepra lepromatosa. Además de las lipoproteínas triaciladas, otros ligandos como lipoarabinomanan y peptidoglicano muestran acción sobre los TLR2.²⁸ Al estimular los TLR2 en la superficie de la línea celular de Schwann humana ST88-14 y en cultivos de estas células se observa aumento de la apoptosis de la línea celular neuronal. La neutralización de TLR2, mediante un anticuerpo monoclonal anti-TLR2, detiene la apoptosis de las células de Schwann, lo que demuestra la relación entre la presencia de TLR2 y el daño neuronal en la lepra.²⁹

5. Enfermedad de Behcet

La HSP forma parte de un grupo de moléculas liberadas de células necróticas después de una injuria tisular: cumplen la función de remover toxinas. En la enfermedad de Behcet se ha observado un aumento en la actividad de células T y B contra la HSP. La HSP60 se une a los TLR2 y TLR4, lo que sugiere un rol de éstos en la señalización de peligro endógeno con liberación de citoquinas y aumento de la respuesta adaptativa tipo Th1 en esta enfermedad.³⁰

6. Acné

El *Propionibacterium acnes* (PA), que sintetiza fosfatidilinositol y contiene peptidoglicano, se implica en la génesis del acné.³¹ Los TLR2 reconocen al PA e inducen al monocito a secretar citoquinas, entre ellas IL-12 p40 e IL-8. Se encontró que los TLR2 se expresaban en la superficie de los macrófagos alrededor de la unidad pilosebácea de pacientes con acné. Esta expresión se midió de acuerdo con el tiempo de evolución del comedón, y se encontró una escasa cantidad a las seis horas de aparición, con un aumento exponencial en su expresión según las horas de instaurada la lesión de acné. Estos hallazgos sugieren que el PA activa el NF κ B y dispara la respuesta inflamatoria por activación de los TLR2. Así, los TLR pueden ser un blanco novedoso en el tratamiento de esta enfermedad.³² El adapalene, en uso clínico para el tratamiento del acné, inhibe la expresión de TLR2 y TLR4 en un 80%.³³

7. Psoriasis

En la psoriasis, enfermedad de índole inflamatoria cuyos antígenos permanecen desconocidos, hay participación de células T CD4+ y producción de citoquinas como IFN-SIGNO por las T CD8+.³⁴ En pacientes con psoriasis los TLR2 se expresan en los queratinocitos de las capas altas, y el TLR5 en la capa basal, mientras que los queratinocitos de las pieles sanas expresan TLR1, TLR2 y TLR5 con igual distribución en todas las capas.³⁵

8. Enfermedades autoinmunes

Se cree que en enfermedades autoinmunes la estimulación de los TLR en células dendríticas produce secreción de IL-6, que actúa sobre las células T efectoras, librándolas de la inhibición del linfocito T represor y favoreciendo la auto-reactividad. La relación entre los TLR y la enfermedad autoinmune se demuestra en el modelo de ratón MRL-lpr del lupus eritematoso sistémico y de la artritis reumatoidea, donde se observa que la proliferación de la célula B requiere no solamente el receptor de la célula B sino también un TLR9.²³ En trabajos de experimentación se encontró que los inhibidores de la estimulación y la señalización de los TLR tienen la posibilidad de combatir enfermedades autoinmunes, como se observó al aplicar LPS en dosis hasta cien veces mayores a las que estimulan la proliferación de líneas celulares de macrófagos y CD, y finalmente se obtuvo un efecto inmunosupresor de las células T represoras CD4+ CD25+ sobre las células T autoinmunes.²³

La HSP que activa la vía de los TLR puede tener secuencias homólogas que reaccionan con la célula T y producen procesos inflamatorios y autoinmunidad. Algunos epítopes de las HSP homólogas a epítopes endógenos se implican en la regulación de la inflamación y en la autoinmunidad. Estas HSP están involucradas en la regulación inmune adaptativa durante situaciones de estrés inmunológico, y recientemente se las ha considerado disparadores de inmunidad innata a través de los TLR.³⁶

9. Enfermedades alérgicas

La exposición fisiológica a diversos ligandos de virus, bacterias y hongos se considera un factor inmune de homeostasis, pero también, para algunos autores, constituye un elemento de predisposición para atopía.³⁷ Las reacciones alérgicas son el resultado de la activación Th2 contra estímulos medioambientales. Los TLR median las interacciones entre células dendríticas, linfocitos T y mastocitos, e intervienen así en la respuesta inmune alérgica. Los TLR

inducen maduración de las CD y éstas activan los linfocitos T nativos hacia linfocitos T ayudadores con respuesta Th1 y Th2.³⁸ Varios patógenos como *S. aureus* y el virus respiratorio sincitial contribuyen al desarrollo y a la perpetuidad de las enfermedades alérgicas y son potentes activadores de la vía de los TLR. La presencia de TLR en los mastocitos puede relacionar la patogénesis del asma y la dermatitis atópica con los TLR. La habilidad de los TLR2 para inducir la producción de leucotrienos por parte de la célula mastocítica abre posibilidades para la comprensión de los mecanismos de exacerbación de la enfermedad durante las infecciones.³⁹ El mastocito posee TLR2 y TLR4 y reconoce ligandos de patógenos de manera muy similar a otros leucocitos. La activación de la célula mastocítica mediada por TLR2 por el PGN del *S. aureus* conduce a la degranulación de IL-4 e IL-5. La activación de TLR4 por el PGN libera TNF- α , IL-1 α , IL-6 e IL-13.⁴⁰

10. Aplicaciones terapéuticas

Las investigaciones en la manipulación de los TLR conducen a novedosas opciones terapéuticas. El resiquimod, un ligando sintético para TLR7 y TLR8, transforma la respuesta Th2 de los linfocitos hacia una Th1, lo que sugiere su utilidad en enfermedades alérgicas.²³

Los TLR son un blanco terapéutico estratégico en enfermedades con respuesta inmune adaptativa inapropiada, como sepsis, enfermedades autoinmunes, cáncer y alergias;²³ por ende, las aplicaciones terapéuticas de este avance en la inmunología son diversas. Las imidazoquinolonas sintéticas son sustancias inmunoestimulantes que activan los TLR, tienen propiedades antivirales y antitumorales, actúan a través de los TLR7 e inducen citoquinas *in vivo* e *in vitro*.^{6,38} Se sabe también que estimulan la vía del óxido nítrico. El más conocido es el imiquimod, que estimula la acción de monocitos, macrófagos, CD y células citocidas. Tiene efectos en la maduración funcional pero no en la fenotípica de la célula dendrítica. La expansión de células CD3-, CD56+ citocidas produce altos niveles de IFN- α y le da una importante capacidad de inducción de Th1. Al promover la producción de citoquinas tipo Th1, inhibe la producción de IL-5 y la respuesta Th2, y lleva a un viraje inmune que es terapéuticamente útil,⁴⁰ cuyo campo de aplicación se dirige hacia virus, tumores y dermatitis atópica. Existen estudios de este producto en verrugas, molusco contagioso y herpes simple; puede ser útil en enfermedades causadas por microorganismos intracelulares. El imiquimod se ha usado en tumores como carcinoma basocelular, sarcoma de Kaposi y linfomas cutáneos.

Los receptores tipo Toll: "los ojos de la inmunidad innata"

El resiquimod es una molécula sintética pequeña, con reconocidas capacidades antivirales y antitumorales, y para retardar el inicio de lesiones de herpes recurrente en animales y humanos, y habilidad para inducir IL-4 e IFN- α . Puede ser coadyuvante en la inmunoterapia específica para el tratamiento de enfermedades alérgicas.⁴¹ Se demostró que es capaz de promover la diferenciación de las células CD4+ de perfil Th2 a Th1, lo que conlleva la estimulación de la inmunidad innata, de macrófagos y de células NK.⁴¹ El resiquimod también se ha investigado en el tratamiento de *Leishmania major* en animales y en humanos.²⁰ En un estudio en líneas celulares infectadas por *Leishmania* se detectó, mediante análisis del DNA, apoptosis inducida por resiquimod en células epiteliales, queratinocitos y fibroblastos.⁴²

Otros inmunomoduladores, como la bropirimina y la loxoribina, tienen acciones sobre el TLR7.²³ La bropirimina se ha utilizado por vía oral en la producción de citoquinas tipo IFN- α y es clínicamente útil en carcinoma de células renales.⁴¹

Existen importantes avances en el campo antitumoral y en la producción de vacunas. Se conoce que el DNA y algunos oligonucleótidos bacterianos contienen una secuencia no metilada de dinucleótidos CpG DNA, que estimula la res-

puesta inmune por medio de la interacción con los TLR9, con la consecuente producción de citoquinas que activan la respuesta de células T ayudadoras. La activación de los TLR9 por estas secuencias tiene implicaciones terapéuticas en cáncer y alergias.⁴³

La potenciación de la respuesta inmune frente a ciertos antígenos asociados a tumores es un paso clave en la inmunoterapia contra el cáncer. La señalización de los TLR y de sus adaptadores induce la producción de interferones, quimioquinas y citoquinas proinflamatorias. También existen reportes sobre la activación de la respuesta inmune por los TLR2 y TLR4 luego de la resección de un carcinoma, y de la acción final del TLR3 en la liberación de IFN tipo 1 en la apoptosis y citotoxicidad humoral mediada por las NK.⁴⁴

SUMMARY

Toll-like receptors are a recently discovered family of proteins, with important attributes in innate immunity, as the recognition of conserved pathogen-associated molecular patterns of microorganisms. This review highlights recent aspects on toll like receptors function, and their applications in dermatology.

BIBLIOGRAFÍA

1. Janeway Ch, Medzhitov R. Innate Immune recognition. *Annu Rev Immunol.* 2002; 20 :197-216.
2. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nature Rev Immunol.* 2001; 135-145.
3. Schwarz T. Skin Immunity. *Brit J Dermatol.* 2003;149:2-4.
4. Beutler B. Toll-like receptors: how they work and what they do. *Curr Opin Hematol.* 2002;9:2-10.
5. Gura T. http://info.med.yale.edu/external/pubs/ym_spo2
6. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol* 2003; 21:335-376.
7. Hoffmann JA. The Immune response of *Drosophila*. *Nature.* 2003;6:4226(6962):33-38 Abstract.
8. Werling D, Jungi T.W. Toll-like receptors linking innate and adaptative immune response. *Vet Immunol Immunopathol.* 2003;91:1-12.
9. Song P. Human keratinocytes express functional CD14 and toll-like receptors. *J Invest Dermatol.* 2002;119: 424-32
10. Akira S. Mammalian toll-like receptors. *Curr Opin Immunol.* 2003;15:5-11.
11. Fukao T, Koyasu S. Pi3K and negative regulation of TLR signalling. *Trends Immunol* 2003; 24:358-363.
12. Underhill D, Ozynsky A. Toll-like receptors: key mediators of microbe detection. *Current Opin in Immunol* 2002; 14:103-110.
13. Chuang T, Ulevitch RJ. Identification of hTLR10: a novel toll-like receptor preferentially expressed in immune cells. *Biochim Biophys Acta .* 2001;1518:1557-61.
14. TschoepJF, Martinon et al. NALP: a novel protein family involved in inflammation. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4:95-104.
15. Medzhitov R, Janeway C. Innate Immunity. *N Engl J Med* 2000; 343:338-344.
16. Trinchieri G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptative immunity. *Nat Rev Immunol* 2003; 3:133-46.

Los receptores tipo Toll: “los ojos de la inmunidad innata”

17. Carrillo-Esper R. Immunity innate, toll receptors and sepsis. *Cir Ciruj* 2003; 71:252-258.
18. Abbas AK. Inmunología celular y molecular. McGraw Hill Interamericana. 4ª edición. Capítulo 15: 355-375.
19. Kirschning CJ. Toll-like receptors and innate antifungal responses. *Trends Microbiol* 2004;12:44-49.
20. Becker I, Salaiza N. *Leishmania* lipophosphoglycan (LPG) activates NK cells through toll-like receptor 2. *Molecular and Biochem Parasitol* 2003;31:65-74.
21. De Veer MJ, Curtis JM, Balwin TM, et al. MyD88 is essential for clearance of *Leishmania major*. possible role for lipophosphoglycan and toll receptor -2 signaling. *Eur J Immunol*. 2003; 33: 2822-2831.
22. De Trez C, Brait M. MyD88 depends *in vivo* maturation of splenic dendritic cells induced by *Leishmania donovani* and other *Leishmania* species. *Infect Immunol* 2004; 72:824-832.
23. Lawton JA Ghost P. Novel Therapeutic strategies based on toll-like receptor signaling. *Curr Opin in Chem. Boil* 2003;7:446-451.
24. Fujimoto C, Nakagawa Y, Ohara K. *et al*. Polyriboisoininic polyribocytidylic acid poly(I:C)/TLR3 signaling allows class I processing of exogenous protein and induction of HIV - specific CD8+ cytotoxic T Lymphocytes. *Int Immunol* 2004;16:55-63.
25. Burzyn D, Rassa JC, Kim D, *et al*. Toll-like receptor -4 dependent activation of dendritic cells by retrovirus. *J Virol* 2004; 78:576-584.
26. Kurt-Jones EA, Chan M. Herpes simplex virus 1 infection with toll-like receptor 2 contributes to lethal encephalitis. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101:1315-1320.
27. Shkar AA, Bauer S, Mitchell WJ, et al. Local delivery of CpG oligodeoxynucleotides induces rapid changes in the genital mucosa and inhibits replication, but no entry, of herpes simplex virus type 2. *Virology* 2003; 77:8948-8956.
28. Krutzik SR, Ochoa MT, Sieling PA, et al. Activation and regulation of toll-like receptors 2 and 1 human leprosy. *Nat Med* 2003; 9:525-532.
29. Oliveira RB, Ochoa MT, Sieling PA, et al. Expression of toll-like receptors 2 on human Schwann cells: a mechanism of nerve damage in leprosy. *Infect Immunol* 2003;71:1427-1433.
30. Direskeneli H, Saruhan-Direskeneli G. The role of heat shock proteins in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2003; 21:S44-S48.
31. Gollnick H, Cunliffe WJ. Management of acne: A report from a Global Alliance to improve outcome in acne. 2003; 49:S1-S11.
32. Kim J, Ochoa MT, Krutzik SR, et al. Activation of toll-like receptor 2 in acne triggers inflammatory cytokine response. *J Immunol* 2002;169:1535-1541.
33. Vega B. World Congress of Dermatology 2002. Paris-France.
34. O'Neill LA. Therapeutic targeting of toll-like receptors for inflammatory and infectious. *Curr Opin Pharmacol* 2003;3:396-403.
35. Baker BS, Ovigne JM, Powles AV, *et al*. Normal keratinocytes express toll-like receptors (TLRs) 1, 2, and 5: modulation of TLR expression in chronic plaque psoriasis. *Br J Dermatol* 2003;148:670-79.
36. Van Eden W, Koets A, et al. Immunopotentiating heat shock proteins: negotiators between innate danger and control of autoimmunity. *Vaccine* 2003; 21:897-901.
37. Horner AA, Raz E. Do microbes influence the pathogenesis of allergic diseases? Building the case for toll-like receptor ligands. *Curr Opin Immunol* 2003; 15:614-619.
38. Bellou A, Schaub B, Ting L. Toll-like receptors modulate allergic responses: interaction with dendritic cells, T cells and mast cells. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2003; 3:487-494.
39. Marshall JS, McCurdy JD, Olynych T. Toll-like receptor-mediated activation of mast cells: implications for allergic diseases? *Int Arch Allergy Immunol*. 2003; 132:87-97.
40. Supajatura V, Ushio H, Nakao A. Differential response of mast cell toll-like receptors 2 and 4 in allergy and innate immunity. *J Clin Invest*. 2002; 109:1351-1359.
41. Brugnolo F. The novel synthetic immune response modifier R-848 (Resiquimod) shifts human allergen-specific CD4+ Th2 lymphocytes into IFN- γ producing cells. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:380-388.
42. Meyer T, Nindl I, Schmook T, *et al*. Induction of apoptosis by toll-like receptor-7 agonist in tissue cultures. *Br J Dermatol*. 2003; 149:9-14.
43. Jiang W, Pisetzky DS. Enhancing immunogenicity by CpG DNA. *Curr Opin Mol Ther* 2003;5:180-185.
44. Seya T, Akazawa T, Uehori J, *et al*. Toll-like receptors and their adaptors in adjuvant immunotherapy for cancer. *Anticancer Res*. 2003;23:4369-4376.