

Papel de los “Toll Like Receptor” en la lesión pulmonar aguda

Ignacio Frías

Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de La Laguna, 38206, Canary Islands, Spain

Correspondencia: jfrias@ull.es

Resumen

Papel de los “Toll Like Receptor” en la lesión pulmonar aguda.

El pulmón es la vía de entrada a todo tipo de patógenos y sustancias tóxicas disueltas en los gases del ambiente y es, por tanto, la primera barrera efectiva frente a estos agentes. La respuesta biológica al daño descansa en un fino ajuste de respuestas inmunitarias de dos tipos: innatas y adaptativas, el balance de las cuales decide el tipo de la amenaza y la magnitud de la respuesta. Los “Toll Like Receptor” identifican diferentes formas de estímulos y desencadenan una compleja respuesta concertada que incluye, en el caso de la activación del TLR-4 por lipopolisacáridos bacterianos, a las proteínas IRAK, IKK y NF- κ B, que culmina en la expresión controlada de diferentes formas de respuesta del sistema inmune en el epitelio pulmonar entre ellas: IL-6 y TNF- α . Tanto la persistencia del estímulo como defectos en los TLR pueden desencadenar una respuesta excesiva que culmina en la denominada Lesión Pulmonar Aguda (LPA) caracterizada por hiperoxia, edema, incremento en la apoptosis y pérdida de la función fisiológica.

Palabras clave: *Toll Like Receptor*, Pulmón, Lesión pulmonar aguda, TLR-4

Summary

Role of "Toll Like Receptor" in acute lung injury.

Lung is the gateway to all types of pathogens and toxic gases dissolved in the environment and there is the first effective barrier against these agents. Biological response lies on a fine-tuning of immune responses of two types: innate and adaptive balance which decides the type of threat and the magnitude of the response. The "Toll Like Receptor" identify different forms of stimuli and triggers a complex response involving different concerted signaling cascades, TLR-4 is implied in highlighting in response to bacterial lipopolysaccharides of the IRAK protein, IKK and NF- κ B, targeting the controlled expression of different forms of system response immune lung epithelium including: IL-6 and TNF- α . Both the persistence of the stimulus as defects in the TLR may trigger an excessive response that culminates in the so-called acute lung injury (ALI) characterized by hyperoxic, edema,

increased apoptosis and loss of physiological function.

Key words: *Toll Like Receptor*, Lung, acute lung injury, TLR-4

Introducción

TLR como una interfaz entre el medio ambiente y las células del pulmón

En una multitud de situaciones ambientales y clínicas, los pulmones se enfrentan a una agresión considerable de agentes patógenos y tóxicos que cuando no son adecuadamente neutralizados o cuando la intensidad del estímulo es persistente, degenera en daño al tejido pulmonar. En último término el edema y las infiltraciones de macrófagos dañan irreversiblemente la función alveolar como se observa en la neumonía.

La primera barrera de defensa está constituida por la compleja geometría del pulmón que impide la penetración de grandes partículas infecciosas mientras que las estrechas uniones intercelulares garantizan la integridad estructural del epitelio pulmonar. Además, las células caliciformes de las vías respiratorias secretan moco que presenta una variedad de mediadores solubles de defensa del huésped, tales como IgA secretora, péptidos antimicrobianos, proteínas del surfactante, lactoferrina y lisozima al tiempo que las células epiteliales ciliadas llevan este moco y sus partículas atrapadas hacia los bronquios y lejos de los alvéolos para facilitar su expulsión. Por último, los macrófagos residente alveolares y las células dendríticas de la mucosa mantienen una vigilancia constante sobre los patógenos, al tiempo que mantienen inhibidas a las células T frente a la mayoría de elementos antigénicos no patógenos [5]

Frente a esta respuesta adecuada para la presencia puntual en intensidad y en el tiempo de agentes dañinos, hay otra forma de respuesta que se enfrenta a una invasión intensa y prolongada frente a agentes patógenos y que puede acabar en una infección del tejido y en una respuesta inflamatoria intensa, esta respuesta denominada “respuesta inflamatoria aguda” y que afecta al epitelio pulmonar, las células mieloides y los tejidos linfoides asociados, tiene su origen en los macrófagos, desde donde se generan señales mediadas por una serie muy conservadas de Proteínas Receptoras de Reconocimiento (**PRR**). La

función principal de este tipo de receptores es la de promover la activación y la liberación de citocinas y quimiocinas que atraen a los leucocitos al sitio de la infección y provocar tanto la maduración como el tráfico de células presentadoras de antígeno para la inducción de la inmunidad adaptativa.

De entre todos estos receptores presentes en los macrófagos, destacan los denominados Toll Like Receptor (*TLR*), denominados así desde su descubrimiento en 1985 en *Drosophila*, por ser los responsables de la respuesta frente a patógenos y responsables de la denominada Lesión Pulmonar Aguda (*LPA*). En humanos se han descrito 11 genes *TLR* funcionales que juegan diversas funciones en la defensa del huésped, inflamación y autoinmunidad. Los diferentes *TLR* reconocen diferentes estructuras patogénicas. *TLR-4* destaca por formar heterodímeros e interaccionan con otras proteínas extracelulares y con sus agonistas derivados de las cubiertas bacterianas produciendo un cambio conformacional transmembrana que transmite la señal al interior de la célula. El principal elicitor de los *TLR-4* son los lipopolisacáridos componente de las bacterias Gram-negativas, especialmente la región antigénica O y el lípido A. Otros elicitores como diferentes lipoproteínas bacterianas estimulan a los *TLR-2*. La flagelina, un componente monomérico que conforma los flagelos bacterianos activa a los *TLR-5*. Los ácidos nucleicos de doble cadena de ADN con motivos CpG no metilados activa los *TLR-9*. Mientras que los *TLR-3* y *TLR-7* y 8, se activan por RNA viral de doble cadena y ARN de cadena sencilla, respectivamente [4,6,8].

Estructura extracelular de unión a ligando de los *TLR-4*

Los *TLR-4* son capaces de unir lipopolisacáridos bacterianos a un complejo compuesto por el receptor homodimérico y la proteína presentadora extracelular denominada Myeloids Differentiation Protein-2 (*MD-2*). Estos múltiples dominios de reconocimiento se localizan a lo largo de los brazos de la proteína, dentro de los brazos y en la periferia y requiere la presencia de una proteína auxiliar denominada Lipopolysaccharides Binding Protein (*LPS*) [1] **Figura 1**.

Cascada de señalización intracelular de los *TLR-4*

La unión ente la *LPS* unida a los lipopolisacáridos y los *TLR-4* induce cambios conformacionales que se transmiten a la región citoplásmica activando a la proteína translocadora MyD88 y posteriormente a la quinasa de la Interleuquina (*IL*) asociada al receptor (*IRAK*). A continuación se activa el complejo I-kappa β -quinasa (*IKK*) que induce la fosforilación del I κ β , como consecuencia se desactiva la inhibición del factor citoplásmico

responsable de mantener en el citoplasma al factor nuclear-kappa β (*NF-k β*). Resultado de esta cadena de eventos el *NF-k β* se transporta al interior nuclear donde se une a las secuencias promotora de diferentes secuencias génicas responsables de la respuesta inmune, ente otro, el gene de la interleukina-6 (*IL-6*) y el del factor de necrosis tumoral-alfa (*TNF- α*) [2] **Figura 2**.

Participación de *TLR-4* en la Lesión Pulmonar aguda

La *LPA* es una lesión heterogénea considerada muy grave y que se caracteriza por el incremento en la expresión de citoquinas inflamatorias y la infiltración de células en los pulmones, además de originar edema pulmonar del tipo no cardiogénico y daño alveolar difuso asociado a una manifestación de insuficiencia respiratoria [3].

En el origen de la *LPA* se encuentran dos tipos de estímulos, originados bien a partir de una infección bacteriana o bien, por la presencia de compuestos estimuladores de la respuesta como toxinas de diverso tipo o el efecto estimulador generado por hiperoxia bajo ventilación asistida. Los *TLR*, situados en la membrana de los macrófagos, detectan elicitores bacterianos específicos como el ácido hialurónico o el fibrinógeno que son generados por bacterias potencialmente dañinas, los diferentes estímulos activan diferente efectores en el interior del citoplasma, el resultado final es la activación de una serie de cascadas de señales producto de la combinación de los diferentes *TLR* activados. Cuando la estimulación es limitada o puntual, la respuesta resulta contenida y es beneficiosa al repeler la agresión y al mantener la integridad de las células de los alveolos. Cuando la estimulación es persistente deriva en una respuesta perjudicial a la integridad tisular por la presencia de gran cantidad de macrófagos, la generación de grandes cantidades de Especies Reactivas de Oxígeno (*ROS*) y la creación de edema en los tejidos alveolares [7].

En la *LPA* generada por ventilación forzada, típico en pacientes con trauma que tienen afectada su integridad pulmonar, se observa cómo, junto a la acción primaria derivada por el shock hemorrágico y consistente en inflamación e influjo de neutrófilos en el tejido lesionado, aparece la activación del complejo entre los *TLR-4* y los lipopolisacáridos procedentes de las bacteria Gram-negativas frecuentes en las zonas dañadas. Dentro del citoplasma, la activación de la cascada de señales implicada en la *LPA* requiere, además, la activación conjunta de los *TLR-2* a fin de activar la cascada de señalización corriente abajo. Esta doble estimulación se denomina: hipótesis ‘two-hit’ y ha sido bien caracterizada en ratón. En este modelo experimental, tras la estimulación de *TLR-4* por lipopolisacáridos de la pared bacteriana, se detectan los síntomas de la *LPA*, sin embargo este efecto es

transitorio y requiere de la presencia de la sobreexpresión de las TLR-2, con una gran afinidad por lipoproteínas bacterianas y por la flagelina de los flagelos bacterianos. Por tanto, la LPA se generaría por la acción de la TLR-4, mientras que la TLR-2 sería responsable de la culminación hacia la inflamación posterior que denotaría un ataque intenso a la integridad del epitelio pulmonar. En este ambiente de doble estimulación otros componentes de la señal inmune como los mediadores inflamatorios CxCl1, son sobre expresados con la consecuente presencia de neutrófilos y la detección de edema pulmonar. El modelo de ratón es especialmente interesante en cuanto que la supresión de alguno de estos receptores confiere protección frente a la LPA. En este modelo, la presencia de otros TLR como el TLR-3, actúan negativamente frente a este tipo de lesión. Por último, TLR-3 y TLR-7 parecen estar adaptados al reconocimiento y defensa frente a virus respiratorios como los Coronavirus o el virus de la gripe [8].

En pacientes con hiperoxia (altas concentraciones de oxígeno inspirado) consecuencia del tratamiento respiratorio asistido, se genera al cabo de un tiempo LPA, en este caso particular, la presencia de ROS como el anión superóxido y otras formas reactivas secundarias del oxígeno como el H₂O₂ parecen estar en la base de la manifestación. La presencia de TLR-4 estaría implicada en la respuesta protectora frente a estos elicitores probablemente induciendo factores antiapoptóticos como el Bcl2 y otros [8].

Conclusión

La activación del mecanismo inmune innato requiere, en el caso de los macrófagos que protegen el pulmón, de la selectiva activación de diferentes TLR actuando de forma concertada en cascadas de señalización. El diferente patrón de señales generadas en el citoplasma determinará la expresión selectiva de respuestas específicas para las diferentes formas de agresión. En la LPA la activación de este patrón de respuesta se inicia mediante la activación de los TLR-4 que se encargan de identificar la presencia de bacterias mediante, entre otros, el reconocimiento de fragmentos lipopolisacáridos. Junto con otros estímulos, como los reconocidos por los TLR-2 que identifican otros componentes bacterianos, se dispara una respuesta inmune que cuando es persistente, puede culminar en una respuesta excesiva, de lo que es ejemplo la hiperoxia inducida por ventilación asistida. El estudio de la estructura y función de los TLR-4 descrito en este artículo, especialmente las regiones de unión a MD-2 y LPS,

puede desembocar en el descubrimiento de antagonistas o reguladores capaces de minimizar la LPA inducida por hiperoxia. Otras patologías como algunas formas de asma desencadenada por infecciones víricas también estarían reguladas por este importante receptor. De la misma manera la cascada de señalización desde el TLR-4 hasta el núcleo posee un potencial inmenso para el estudio bioquímico de la LPA.

Agradecimientos: A la Fundación “Instituto de Investigación y Ciencia de Puerto del Rosario” (INIPRO) por auspiciar las conferencias base de este trabajo.

Bibliografía

1. Abreu M, Vora P, Faure E, Thomas L, Arnold E, Arditi M. Decreased expression of Toll-like receptor-4 and MD-2 correlates with intestinal epithelial cell protection against dysregulated proinflammatory gene expression in response to bacterial lipopolysaccharide. *J Immunol* 2001; 167:1609-1616.
2. Herrera M, Toledo C, Valladares F, Muros M, Díaz-Flores L, Flores C, Villar J. Positive end-expiratory pressure modulates local and systemic inflammatory responses in a sepsis induced lung injury model. *Intensive Care Med* 2003; 29:1345-1353.
3. Imai Y, Kuba K, Neely G, et al. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. *Cell* 2008; 133(2):235-249.
4. Keoghand B, Parker A. Toll-like receptors as targets for immune disorders. *Trends in Pharmacological Sciences* 2011; 2:1-8.
5. Lafferty E, Qureshi S, Schnare M. The role of toll-like receptors in acute and chronic lung inflammation. *Journal of Inflammation* 2010; 7-57.
6. O'Neill L, Bowie A. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2007; 7(5):353-364.
7. Opitz B, van Laak V, Eitel J, Suttorp N. Innate immune recognition in infectious and noninfectious diseases of the lung. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181(12):1294-1309.
8. Villar J, Cabrera N, Casula M, et al. Mechanical ventilation modulates Toll-like receptor signaling pathway in a sepsis-induced lung injury model. *Intensive Care Med* 2010; 36:1049-1057.

Figuras:

Fig. 1

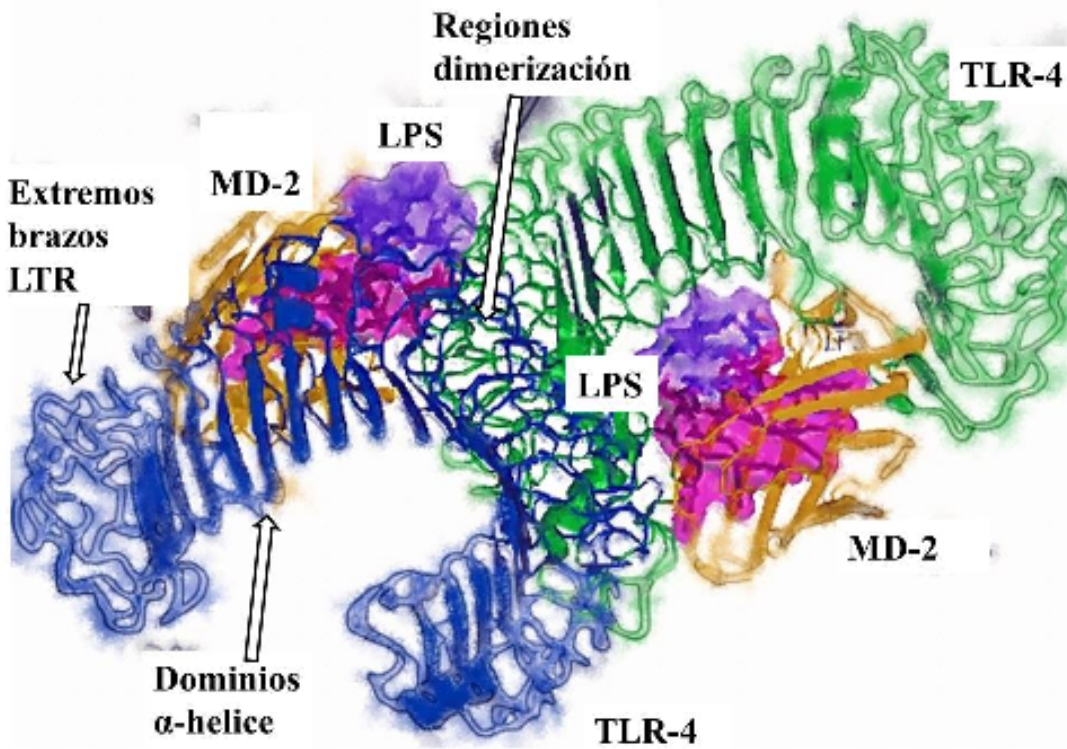


Fig. 2

