

Rol de los receptores tipo Toll en la patogénesis de la rinitis alérgica

Toll like receptors role in the allergic rhinitis

María José Herrera J¹, Pilar Gajardo O², Juliana Bedoya M², Claudia González G³.

RESUMEN

La rinitis alérgica afecta alrededor de seiscientos millones de personas alrededor del mundo, siendo actualmente la enfermedad recurrente con mayor prevalencia. En su patogénesis participa una compleja red de mediadores humorales y celulares participantes del perfil inmunológico Th2. Junto con el sistema inmune adaptativo, componentes de la inmunidad innata han mostrado jugar un importante rol en enfermedades alérgicas, tales como dermatitis atópica y asma bronquial. En el presente trabajo evaluamos el rol de los receptores tipo Toll en rinitis alérgica, realizando una revisión de avanzada con respecto a la expresión, función y modulación de estos receptores en esta enfermedad.

Palabras clave: Rinitis alérgica, receptores tipo Toll, inmunología.

ABSTRACT

Allergic rhinitis (AR) affects about six hundred million people worldwide and is now considered the most prevalent recurrent disease. The pathogenesis of AR involves a complex network of cellular and humoral mediators involved in the Th2 immune profile. Together with the adaptive immune system, components of innate immunity have shown to play an important role in allergic diseases such as atopic dermatitis and bronchial asthma. The present review describes the role of Toll-like receptors in allergic rhinitis. We discuss the importance of the receptors expression, function and modulation in this disease.

Key words: Allergic rhinitis, toll like receptors, immunology.

INTRODUCCIÓN

Rinitis alérgica

La rinitis alérgica (RA) es una enfermedad caracterizada por una inflamación crónica de la mucosa nasal, la cual es mediada por inmunoglobulina (Ig) E e inducida por la exposición a un alérgeno. Clínicamente la RA se caracteriza por presentar rinorrea, estornudos, congestión nasal bilateral y prurito nasal¹. La clasificación ARIA² de esta pato-

logía, clasifica la RA según la frecuencia de los síntomas en intermitente o persistente y según la severidad de los síntomas en leve o moderada a severa, permitiendo un mejor enfoque terapéutico del paciente.

La RA es la enfermedad crónica recurrente más prevalente en los países desarrollados, afectando alrededor de seiscientos millones de personas en el mundo³. En Estados Unidos se estima que entre veinte a cuarenta millones de personas padecen esta enfermedad⁴. Un estudio europeo, en el cual

¹ Médico. Magíster en Ciencias Médicas, Mención Inmunología, Universidad de Chile.

² Médico. Tesista de Magíster en Ciencias Médicas, Mención Inmunología, Universidad de Chile.

³ Médico Otorrinolaringólogo, Departamento de Otorrinolaringología, Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

participaron seis países reportó una prevalencia global de RA de 22,7%⁵. En nuestro país esta enfermedad afecta a 20,58% de escolares⁶.

La prevalencia de las enfermedades alérgicas ha aumentado progresivamente en países desarrollados en el último tiempo. Lo anterior se asocia a la menor exposición a patógenos por la promoción de la salud pública, lo que ha determinado menor exposición antigénica a edades tempranas y con ello menor tolerancia a los antígenos ambientales⁷, esto se ha denominado la teoría de la higiene. Esta observación epidemiológica se asocia con estudios experimentales en que se ha observado un desbalance entre los perfiles de linfocitos T helper (Th) en niños atópicos. La baja exposición a microorganismos patógenos que sufren niños que viven en áreas urbanas, les frenaría el desarrollo temprano de una respuesta Th1 (generada frente a microorganismos intracelulares e inhibitoria de las otras respuestas Th, dentro de las cuales se encuentra la respuesta Th2). Debido a esto, los niños presentarían un desbalance de la respuesta inmune adaptativa, favoreciendo el desarrollo de una respuesta Th2, la cual se caracteriza por la secreción de citoquinas proinflamatorias como interleuquina (IL)-4, IL-5, IL-13 y la secreción de anticuerpos tipo IgE⁸, siendo estas características fundamentales de la respuesta alérgica.

A pesar de que la mayoría de los participantes en la respuesta inmunológica de la RA son células del sistema inmune adaptativo, como linfocitos T (LT) helper y linfocitos B, en los últimos años se ha generado gran interés en el estudio de participantes de la inmunidad innata en el desarrollo de esta enfermedad. En este contexto, los receptores tipo Toll (TLRs) corresponden a interesantes candidatos de análisis, por ser capaces de hacer la unión entre ambos tipos de respuesta, siendo en la actualidad blanco de nuevas terapias contra esta enfermedad.

Receptores tipo Toll

La respuesta inmune innata es la primera barrera defensiva del huésped, ya que cuenta con mecanismos efectores que impiden el establecimiento de la infección. Durante la respuesta inflamatoria, el reconocimiento inicial de los agentes infecciosos, por parte de las células polimorfonucleares (PMN), como neutrófilos, macrófagos y *natural killer* (NK), se efectúa

a través de receptores de reconocimiento de patógenos (*pattern recognition receptors*, PRR), que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (*pathogen-associated molecular pattern*, PAMP). Los PRRs son específicos para cada agente invasor y entre éstos, la familia de los TLRs, juega un rol importante en la activación de la inmunidad innata⁹.

Hasta la fecha, se han identificado 11 integrantes de la familia de los TLRs humanos, los cuales se estudian activamente, buscando sus funciones específicas¹⁰.

Los TLRs se expresan en diferentes células del sistema inmune, como macrófagos, células dendríticas, eosinófilos, monocitos y neutrófilos, como también en células endoteliales y epiteliales¹¹. Específicamente, se encuentran en las células epiteliales de la interfase entre el ambiente externo y la superficie de la mucosa respiratoria, digestiva y urogenital, permitiendo que los mecanismos inmunes defensivos primarios sean iniciados localmente, mientras que inician la comunicación de la presencia de patógenos al sistema inmune adaptativo¹². Es importante reconocer que estas superficies mucosas están colonizadas normalmente con microorganismos, y que el encuentro con los potenciales patógenos es frecuente. Los TLRs, además, tienen un importante rol en la respuesta innata a agentes no infecciosos inmunoestimuladores presentes en el medio ambiente.

En la cavidad nasal, donde es frecuente la interacción microbiana, se ha observado una regulación negativa de la activación de TLRs y desarrollo de tolerancia a la flora normal de la vía aérea superior. Se ha establecido que las células epiteliales desarrollan tolerancia al lipopolisacárido (LPS), componente de la membrana externa de bacterias Gram negativas, después de múltiples estímulos, y que se produce inhibición de TLRs. Es posible que los TLRs puedan discriminar diferencias estructurales en los ligandos patógenos, permitiendo así la diferenciación entre los microorganismos comensales y patogénicos¹³.

En tejido nasal humano se ha encontrado ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de los TLRs 1 al 10¹⁴. Mientras que en el tracto respiratorio inferior se ha detectado TLR2 y TLR4 en células epiteliales alveolares^{15,16}.

Diversos autores han sugerido un rol de los TLRs en la fisiopatología de la rinitis alérgica y el asma bronquial, y el potencial uso de intervención

farmacológica sobre los TLRs para la prevención y tratamiento de las enfermedades atópicas, por lo que el estudio de su expresión durante la respuesta alérgica de las vías aéreas ha tomado importancia. En varios modelos de enfermedades respiratorias, la estimulación de los TLRs produce cambios en la producción de moléculas efectoras, como citoquinas y quimioquinas, desencadenando un aumento de la inflamación en la vía aérea. Además, se sabe que las infecciones virales y bacterianas pueden empeorar los síntomas de una rinitis alérgica y exacerbar el asma bronquial¹². Un aumento de los TLRs presentes en la parte apical del epitelio puede inducir una hiperreactividad a bacterias y virus en pacientes con rinitis alérgica estacional.

En relación con la alergia, la señalización vía TLR2, TLR4 y TLR9 tiene la mayor relevancia¹⁷, demostrado por el hecho que células dendríticas murinas deficientes en alguno de estos tres receptores presentan una respuesta inmune alterada¹⁸.

En relación con la teoría de la higiene, los TLRs participan en la respuesta de múltiples patógenos, por lo que pueden tener un rol crítico en la maduración de sistema inmune, modulando la respuesta alérgica. Prescott y cols. demostraron que las células mononucleares de cordón de recién nacidos que desarrollaron alergia al año de vida, presentaban una disminución de la expresión de TLR4 frente a la estimulación con LPS, que era significativamente de menor magnitud que la de niños no alérgicos, sugiriendo una alteración en la regulación de la expresión de TLR4 por su ligando, favoreciendo un estado inflamatorio¹⁹.

A continuación describiremos los principales hallazgos descritos hasta la fecha con respecto al rol de los TLRs en RA.

Expresión y función de TLRs en RA

TLR2

De ubicación en la membrana extracelular, interactúa con el peptidoglicano (PGN) constituyente de la pared de todos los tipos bacterianos, ácido lipoteicoico de bacterias Gram positivas, así como otros componentes de mycobacterias y hongos. Puede formar heterodímeros con TLR1 o TLR6.

TLR2 se expresa en la región apical del epitelio nasal, hacia el lumen. Este receptor se ha descrito como un factor clave, en el desarrollo de la alergia,

sin embargo, su estudio en mucosa nasal de pacientes con RA ha generado controversia, ya que se ha descrito tanto un aumento como una disminución de su expresión en esta patología.

Estudios en modelos animales y en humanos han evidenciado una menor expresión de TLR2 en mucosa nasal de pacientes con RA. Vanhinsbergh y cols. observaron una reducción significativa en la expresión del ARNm de TLR2 en mucosa nasal de cornete inferior de pacientes alérgicos comparado con controles²⁰. En un modelo murino de alergia el ARNm de TLR2 se ve disminuido²¹. La importante reducción de expresión de TLR2 en estos estudios sugiere que el aumento de la expresión de este receptor puede proteger contra el desarrollo de patologías alérgicas²⁰, lo cual ha sido descrito por Lauener y cols., quienes reportaron un análisis epidemiológico donde observaron que los hijos de granjeros, quienes crecen en un ambiente rico en microorganismos y tienen menor riesgo de desarrollar alergia, presentan una mayor expresión de ARNm de TLR2 en células sanguíneas, en comparación con hijos de no granjeros²². Además, polimorfismos del gen de TLR2 se han descrito como un factor protector en la susceptibilidad a asma bronquial y alergia en hijos de granjeros, sin embargo, estas modificaciones genéticas no ofrecerían protección a niños de padres cuyo trabajo no se desarrolla en la granja²³.

En contraposición con lo anterior, se ha observado una sobreexpresión de TLR2, en mucosa nasal de pacientes con RA sintomática tanto antes como después de la exposición a alérgeno, junto con un aumento de TLR2 en pacientes con RA estacional²⁴.

Con respecto a la funcionalidad de este receptor en pacientes con RA, también existen resultados contradictorios. Varios estudios reportan que ligandos de TLR2 administrados a modelos murinos de alergia durante el periodo de sensibilización aumentan la respuesta alérgica Th2^{25,26}, mientras otros muestran que la activación de TLR2 suprime respuestas Th2 y la producción de IgE en modelos animales tanto antes como después de desafíos con alérgenos de vía aérea^{27,28}.

Apoyando la primera hipótesis, se ha visto que TLR2 también responde a LPS de bacterias específicas desencadenando una respuesta de tipo Th2²⁸. Chisholm y cols. demostraron que la inmunización

de ratones vía mucosa nasal con una mezcla de antígeno y PGN, generaba una hipersensibilidad tipo Th2 frente a la reexposición del antígeno, es decir, que la estimulación de TLR2 en este modelo murino aumentaría la respuesta alérgica nasal. Utilizando la misma estrategia pero con ligando de TLR9 se desencadenaba una respuesta Th1, es decir, protectora de una respuesta alérgica²⁵.

Por otra parte, un ligando sintético para TLR2 (Pam3CSK4) administrado vía intraperitoneal, utilizado en un modelo murino de RA, disminuye la sintomatología alérgica, además de la eosinofilia, células inflamatorias, IgE sérica e IL-13, aumentando paralelamente la secreción de interferón gamma (IFN- γ)¹⁷. Otro estudio demuestra que la utilización de este mismo ligando de TLR2 produciría una supresión de la degranulación de mastocitos inducida por antígeno²⁹. Estos estudios sugieren que la activación de TLR2, mediante su agonista Pam3CSK4, disminuye la inflamación alérgica produciendo un viraje desde una respuesta inmune Th2 hacia una Th1. En esta misma línea, un estudio, demostró que ligandos de TLR2 inhiben las respuestas alérgicas específicas de tipo Th2 in vitro, en individuos humanos sensibilizados a polvo de habitación, pero que no se produce un cambio de la respuesta Th2 a Th1, al evaluar los ligandos en forma purificada, como el ácido lipoteicoico o Pam3CSK4³⁰.

Los mastocitos humanos también expresan ARNm de TLR1, TLR2 y TLR6, pero no expresan TLR4 a diferencia de lo visto en ratones^{31,32}, los mastocitos actúan como efectores de la respuesta alérgica, degranulándose y liberando prostaglandinas y leucotrienos, y son activados a través de TLR2 ante la presencia de microorganismos específicos³³. Mastocitos de pólipos nasales expresan TLR2 en baja cantidad, lo que también se observan en tejido pulmonar humano³¹.

Como antecedente anexo, pacientes con dermatitis atópica están fuertemente colonizados por bacterias activadoras de TLR2 (*Staphylococcus aureus*) y presentan una desregulación hacia el perfil de respuesta Th2³⁴. Infecciones o colonizaciones por *S. aureus*, desencadenan crisis de dermatitis atópica y la aplicación de ácido lipoteicoico derivado de *S. aureus* en piel murina induce eczema inflamatorio³⁵. La infección por esta bacteria se asocia a varias enfermedades atópicas, incluida la RA, es más, en

rinosinusitis crónica, la enterotoxina B del *S. aureus* cambia el perfil de citoquinas a Th2. Esta toxina además estimula la producción de IL-5 e induce la producción de IgE policlonal, lo cual puede contribuir a una inflamación severa vía activación de mastocitos^{4,12}. Anticuerpos IgE específicos para superantígenos de *S. aureus* están presentes en el tejido de pólipos nasales, y sus niveles se correlacionan con marcadores de activación y reclutamiento de eosinófilos^{25,36}.

En resumen, la activación de TLR2 es capaz de estimular la respuesta inmune hacia un perfil Th2, pero a la vez, se ha observado que puede reprimirla y actuar como protector para desarrollo de RA. La relación entre la activación de TLR2 y la respuesta alérgica es muy compleja, y probablemente depende del antígeno, el tiempo, la dosis y el tipo de ligando³⁷. Ligandos de TLR2 son capaces de inducir expansión y activación de LT reguladores, lo cual sumaría otra explicación para este efecto dual de TLR2 en RA³⁸. La vía por la cual se administra el ligando también tendría implicancia en la respuesta de TLR2, ya que cuando se administran por vía inhalatoria, eosinófilos son reemplazados por neutrófilos²⁷, lo cual es atribuible, a la activación de la respuesta Th17, ya que ligandos de TLR2 aumentan IL -23^{38,39}.

Es necesario seguir investigando la influencia de TLR2 en RA, debido a que la capacidad para inhibir la respuesta alérgica mediante este receptor puede ser de utilidad terapéutica.

TLR 3 y 4

Debido a que la mayoría de los estudios evalúan el rol de estos receptores en forma simultánea, a pesar de que actúan y tienen ligandos totalmente diferentes, se discutirán en conjunto.

El receptor TLR3 se expresa en diversas células del sistema inmune como células dendríticas, eosinófilos macrófagos, NK y monocitos. Su localización depende del tipo celular, por lo que se puede encontrar en compartimentos endosomales o en la superficie celular. Reconoce ARN doble hebra (dsARN) viral que se produce como intermediario en el ciclo de replicación viral o como parte del ARN genómico viral. Luego de la activación del receptor por unión de su ligando se induce la producción de interferón tipo I (IFN-I) que posee efecto antiviral e inmunoestimulador⁴⁰⁻⁴².

El TLR4, fue el primer TLR que se identificó como homólogo al receptor Toll de *Drosophila*⁴³.

Reconoce LPS que es un glicolípido que forma parte de la membrana externa de bacterias Gram negativas^{44,45}.

Con respecto a la expresión de TLR3 y TLR4 en RA, Sha y cols. reportaron la presencia de ARNm en células epiteliales de la vía aérea y posteriormente VanderMeer y cols. evaluaron mediante RT-PCR la expresión de los diferentes TLR en mucosa sinonasal de 5 pacientes con rinosinusitis crónica, observando que expresaron cantidades elevadas de RNAm de TLR3 y escasas de TLR4^{7,14,46}.

En RA intermitente, Fransson y cols. cuantificaron la expresión de TLR3 y TLR4 a nivel de proteína y ARNm en la mucosa nasal de pacientes con RA, antes y después de la exposición a polen. Mediante localización inmunohistoquímica en biopsias de mucosa nasal encontraron inmunorreactividad para TLR3 y TLR4 en la parte apical del epitelio nasal y el análisis cuantitativo de la expresión proteica reveló un aumento en la expresión de los dos receptores luego de la exposición al alérgeno. También observaron inmunorreactividad en células subepiteliales y mediante identificación basada en criterios morfológicos describen inmunorreactividad para TLR3 en mastocitos y ocasionalmente en granulocitos y, para TLR4 en mastocitos, linfocitos, granulocitos y células mononucleares no granulares. En cuanto a la expresión a nivel de ARNm, se demostró la presencia de los dos receptores en todos los sujetos analizados y un incremento significativo de TLR3 durante la estación de polen²⁴.

En contraposición a los resultados anteriores, Vanhinsbergh y cols. demostraron una menor expresión de TLR4 en mucosa nasal alérgica en comparación a mucosa control²⁰.

El trabajo de Kulka y cols. es el primero en la literatura en reportar que mastocitos humanos expresan TLR3 y son capaces de responder a su ligando sintético produciendo interferón alfa (IFN- α)⁴⁷, sugiriendo así, un rol inmunomodulador del TLR3 en la respuesta innata a infecciones virales.

Con respecto a la inflamación alérgica de la vía aérea, Yamashita y cols. describen un modelo murino de asma experimental, en el cual la activación de los mastocitos mediada por TLR4 produjo un incremento de la producción de citoquinas Th2, aumentando así la severidad de la inflamación alérgica eosinofílica de la vía aérea causada por LPS, proponiendo un nuevo papel de TLR4 de mastocitos en la modulación alérgica por LPS en vía aérea⁴⁸.

LPS posee efectos paradójicos dependiendo del tiempo y del contexto de la exposición. La exposición temprana a LPS puede disminuir la incidencia de asma atópica, sin embargo muchos reportes han demostrado un incremento en la severidad de asma inducida por alérgenos luego de la exposición a LPS. Dong y cols. demostraron en un modelo murino de asma, que dosis bajas de LPS inducen respuestas de tipo TH2, pero que dosis altas de éste inducen respuestas de tipo TH1, observándose una relación dosis dependiente. En este mismo estudio se encontró un aumento de TLR4 en macrófagos alveolares, de ratones asmáticos independiente de la dosis de LPS, probando así, la importante participación de este receptor en la patogénesis del asma. Por otro lado, infecciones virales durante los tres primeros años de vida incrementan el riesgo de asma bronquial, especialmente infecciones por Virus Respiratorio Sincicial (VRS) aumentan la sensibilización a alérgenos de la vía aérea. También estudios han revelado que TLR3 y dsARN llevan a la inducción de genes relacionados con la patogénesis de asma bronquial⁴⁹⁻⁵¹.

Con respecto a la modulación de la respuesta alérgica por TLR4, un estudio demostró que la presencia de polimorfismos en el gen de TLR4 en sujetos no fumadores, se asocia con un menor riesgo de atopía, especialmente en la población femenina⁵². Junto con lo anterior, polimorfismos del gen de TLR4 se han asociado con un menor riesgo de atopía en hijos de granjeros, pero no con una disminución en los síntomas de asma bronquial y RA en esta población²³.

Los estudios anteriores sugieren que la mucosa nasal de pacientes con RA presenta una mayor expresión del receptor TLR3 en comparación con mucosa nasal sana. Esto sumado a que la activación de este receptor y de TLR4 en la superficie de los mastocitos sería un factor modulador de la respuesta alérgica, son poderosas evidencias para afirmar el importante rol que jugarían ambos en la fisiopatología de la RA.

TLR9

Diversas células del sistema inmune expresan TLR9, dentro de las cuales se encuentran los monocitos, macrófagos, eosinófilos y células dendríticas plasmocitoides⁵³. TLR9 tiene ubicación intracelular, en estructuras conocidas como endosomas. Este receptor reconoce ADN

bacteriano y viral, específicamente, motivos CpG no metilados, los cuales son infrecuentes en el genoma de vertebrados. El ADN CpG activa a las células dendríticas a producir IL-12, la cual polariza hacia un perfil Th1.

VanderMeer y cols¹⁴ reportaron que células de la mucosa nasal expresan cantidades medianas de TLR9. Si bien este estudio fue realizado en pacientes con rinosinusitis crónica, es el primero en reportar la presencia de TLR9 en células de la mucosa nasal.

Un estudio realizado en pacientes con RA durante el período sintomático de la enfermedad, evaluó la expresión de TLR9 en mucosa nasal mediante inmunohistoquímica, observando que TLR9 se encontraba en células epiteliales de la mucosa nasal de pacientes con RA en forma similar a la de sujetos controles. Los leucocitos (células cebadas, células dendríticas, granulocitos y linfocitos) presentes en la mucosa nasal de pacientes alérgicos también expresan TLR9, no encontrándose diferencias significativas en la expresión de este receptor en leucocitos de controles sanos y pacientes alérgicos, y tampoco una expresión alterada de este receptor luego del desafío con un alérgeno⁵⁴. En este mismo estudio se evidenció que los pacientes con RA presentan similar expresión de TLR9 en leucocitos de sangre periférica y médula ósea que controles sanos. Sin embargo, es de interés el hecho que los monocitos de sangre periférica de pacientes con RA expresan menor cantidad de TLR9 durante la época de pólenes versus lo observado en época no polínica.

Con respecto a la funcionalidad del receptor TLR9 en pacientes alérgicos, Tversky y cols⁵⁵ estudiaron la producción de diversos mediadores inflamatorios por células dendríticas plasmocitoides de estos pacientes, al ser estimuladas con ligandos del TLR9. Estos autores no observaron diferencias en la expresión de TLR9 en células dendríticas plasmocitoides de pacientes alérgicos y no alérgicos, pero las células de pacientes alérgicos secretaron seis veces menos cantidad de IFN- γ , lo cual podría significar una desregulación crítica del sistema inmune de estos pacientes.

Estudios *in vitro* han observado que ligandos de TLR9, tanto naturales como sintéticos, son capaces de generar una respuesta inmune robusta que se inclina hacia el perfil Th1, caracterizada por

la producción de IL-12, IL-18, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , IL-6 e IL-10, antagonizando los efectos de una respuesta inmune Th2⁵⁶.

Los ligandos de TLR9 son eficaces en la modulación a corto y largo plazo de la respuesta inmune. La primera es lograda principalmente mediante la acción sobre las células presentadoras de antígeno, las cuales redirigen la producción de citoquinas hacia un perfil Th1. La regulación a largo plazo es lograda cuando estos compuestos son utilizados en vacunas, actuando sobre células del sistema inmune adaptativo como linfocitos B y linfocitos T, logrando una disminución de anticuerpos tipo IgE, IL-4 e IL-5, elementos clásicos de la respuesta inmune alérgica.

Con respecto a su utilidad en RA, un estudio preclínico de Yamamoto y cols.⁵⁷ evaluó la respuesta clínica e inmunológica en un modelo murino de RA. Ellos demostraron que el ligando de TLR9, CpG 1826, es capaz de disminuir los síntomas de RA, disminuir la infiltración eosinofílica de la mucosa nasal, disminuir el número de LT productores de IL-4 y estimular la producción de citoquinas Th1, como la quimioquina IP-10 en células dendríticas de ratones alérgicos.

Acorde a los resultados anteriores, Rhee y cols.⁵⁸ evaluaron los efectos de la administración de ISS-ODN en un modelo murino de RA sensible a ovoalbúmina (OVA), observando que la administración intranasal o intradérmica de este ligando de TLR9, un día previo al desafío con el alérgeno, logró una protección de los ratones tratados frente al desarrollo de las respuestas aguda y tardía de RA, con respecto al tratamiento con placebo. Este beneficio clínico se acompañó de mejorías bioquímicas, ya que los ratones tratados mostraron una menor secreción de leucotrienos a nivel nasal y una menor síntesis de leucotrienos en monocitos de médula ósea. Con respecto a la producción de anticuerpos, el tratamiento produjo una disminución de IgE e IgG1, no logrando diferencias significativas con respecto al subtipo IgG2. Frente al reestímulo con OVA los esplenocitos de ratones tratados secretaron menor IL-4, IL-5 e IL-13 y mayor IFN- γ . Finalmente, ISS-ODN fue más efectivo que el tratamiento con dexametasona, tanto en aminorar la respuesta de hipersensibilidad en AR, como en cambiar los parámetros inmunológicos Th2 hacia un perfil Th1.

En resumen, los pacientes alérgicos presentan una similar expresión de TLR9 en células de la mucosa nasal y células del sistema inmune, en comparación con sujetos sanos. Sin embargo, los monocitos de pacientes alérgicos en época de pólenes disminuyen la expresión de este receptor. Esto, sumado al hecho que las células dendríticas de pacientes alérgicos producen una menor secreción de IFN- γ al ser estimuladas con un ligando del TLR9 y que estudios preclínicos con agonistas de TLR9 son capaces de modular la respuesta inmune en RA, constituyen evidencias del importante rol que podría estar jugando la disminución de la expresión y/o funcionalidad de este receptor en generar un ambiente proinflamatorio polarizado hacia una respuesta tipo Th2 en los pacientes alérgicos. Si esto constituye la causa o la consecuencia de la enfermedad alérgica, es lo que se debe seguir investigando.

TLRs y su utilidad terapéutica en RA

Aunque existen grandes avances en el entendimiento de la fisiopatología de la RA aún existen pacientes cuyos síntomas no pueden ser controlados con los esquemas terapéuticos habituales. Es por esto que en los últimos años nuevas alternativas terapéuticas basadas en la regulación de la respuesta inmune en RA han sido implementadas. Dentro de éstas últimas, la inmunoterapia alérgeno específica, administrada por vía sublingual y subcutánea, ha mostrado una mejoría significativa en los síntomas nasales y una disminución del uso de otros medicamentos, como corticoides^{59,60}.

Dentro de las nuevas opciones terapéuticas se encuentran los ligandos de TLRs, los cuales han mostrado promisorios resultados tanto *in vitro* como *in vivo*, en el manejo de distintas enfermedades alérgicas, incluyendo la RA³⁸.

A pesar de que no es claro el mecanismo por el cual TLR2 sería capaz de inhibir la respuesta alérgica, su expresión elevada es un factor protector de alergia en ciertas poblaciones, por lo cual se ha considerado como alternativa terapéutica en RA. Mc Cormack y cols. desarrollaron un estudio utilizando lípido A, un ligando de TLR2 y TLR4, asociado a un alérgeno, para vacunar a pacientes con RA intermitente, con cuatro dosis preestacionales, observando una disminución de reacciones de sensibilidad por

prick test y de IgE, junto con un aumento de IgG específica contra el alérgeno. Además se obtuvo una disminución significativa de los síntomas y del uso de medicamentos al comparar el grupo tratado versus el grupo placebo. Las vacunaciones fueron bien toleradas y no se observaron efectos adversos de importancia⁶¹.

Con respecto a la modulación vía TLR4, un estudio clínico fase 1, randomizado, doble ciego y controlado, evaluó CRX-675 administrado por vía intranasal previo a un desafío con alérgeno, observándose mejoría en la sintomatología nasal y ausencia de efectos adversos severos⁶².

Hasta la fecha los estudios de inmunoterapia para RA con ligandos de TLR9 corresponden al tratamiento de pacientes alérgicos a la ambrosía, cuyo polen es un causante de RA intermitente. Estos estudios utilizan seis inyecciones consecutivas constituidas por el alérgeno Amb1 conjugado a una secuencia de oligonucleótidos inmunomoduladores (ISS), mezcla llamada AIC. Tres estudios clínicos realizados en EE.UU. observaron que los pacientes vacunados con AIC tuvieron una disminución de las células inmunes productoras de citoquinas del perfil Th2, menor concentración de anticuerpos IgE específicos contra Amb 1 y un aumento de las células productoras de IFN- γ . Clínicamente los pacientes vacunados evidenciaron una mejoría en sus síntomas nasales y en su calidad de vida durante la temporada inmediata posvacunación, beneficios que se mantuvieron en la temporada del año siguiente⁶³⁻⁶⁵.

CONCLUSIONES

Debido a la alta prevalencia y el impacto en la calidad de vida que tiene esta enfermedad, en los últimos años diversos grupos de investigación se han abocado a estudiar el rol de los TLRs en RA, confirmando que los pacientes portadores de esta patología presentan alteraciones significativas en la expresión y función de distintos TLRs tanto a nivel local como sistémico.

Hasta la fecha podemos concluir que en comparación con mucosa nasal sana existe una mayor expresión de TLR3, igual expresión de TLR9 y resultados contradictorios con respecto a la expresión y función de TLR2 y TLR4 en pacientes con RA.

Creemos interesante el hecho que los pacientes con RA presenten una menor expresión de TLR9 en sus monocitos y que sus células dendríticas secreten menos cantidad de factores inmunorreguladores al ser estimuladas con agonistas de este receptor, pudiendo ser éste un factor importante en la patogénesis de esta enfermedad.

Actualmente están en desarrollo ensayos clínicos cuyo fin es estudiar el rol de diferentes agonistas de TLRs en el tratamiento de RA, por lo cual esperamos que en los próximos años exista evidencia científica de mayor calidad para poder analizar el beneficio de estos nuevos agentes en el tratamiento de la RA. El éxito de estos estudios nos entregaría una valiosa herramienta, sobre todo para el manejo de pacientes con respuesta deficiente al tratamiento actualmente disponible.

Finalmente, no existe evidencia disponible con respecto a los restantes TLRs en RA, siendo esto un campo interesante a desarrollar en laboratorios de ciencias básicas ligados a la especialidad de otorrinolaringología.

BIBLIOGRAFÍA

1. RYAN D, VAN WEEL C, BOUSQUET J, ET AL. Primary care: the cornerstone of diagnosis of allergic rhinitis. *Allergy* 2008; 63(8): 981-9.
2. BOUSQUET J, VAN CAUWENBERGE P, KHALTAEV N. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108 (5 Suppl): S147-334.
3. BOUSQUET J, DAHL R, KHALTAEV N. Global alliance against chronic respiratory diseases. *Allergy* 2007; 62(3): 216-23.
4. SKONER DP. Allergic rhinitis: definition, epidemiology, pathophysiology, detection, and diagnosis. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108 (1 Suppl): S2-8.
5. BAUCHAU V, DURHAM SR. Prevalence and rate of diagnosis of allergic rhinitis in Europe. *Eur Respir J* 2004; 24(5): 758-64.
6. CAUSSADE S, VALDIVIA G, PÉREZ E, AQUEVEDO A, SÁNCHEZ I. Prevalencia de síntomas de rinitis alérgica y su relación con factores de riesgo en escolares de Santiago, Chile. *Rev Méd Chile* 2006; 134: 456-64.
7. HORNER AA. Toll-like receptor ligands and atopy: a coin with at least two sides. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117(5): 1133-40.
8. RAUTAVA S, RUUSKANEN O, OUWEHAND A, SALMINEN S, ISOLAURI E. The hygiene hypothesis of atopic disease—an extended version. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38(4): 378-88.
9. TAKEDA K, AKIRA S. TLR signaling pathways. *Semin Immunol* 2004; 16(1): 3-9.
10. UEMATSU S, AKIRA S. Toll-Like receptors (TLRs) and their ligands. *Handb Exp Pharmacol* 2008; (183): 1-20.
11. MUZIO M, BOSISIO D, POLENTARUTTI N, ET AL. Differential expression and regulation of toll-like receptors (TLR) in human leukocytes: selective expression of TLR3 in dendritic cells. *J Immunol* 2000; 164(11): 5998-6004.
12. BASU S, FENTON MJ. Toll-like receptors: function and roles in lung disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286(5): L887-92.
13. RAMANATHAN M, JR., LANE AP. Innate immunity of the sinonasal cavity and its role in chronic rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 136(3): 348-56.
14. VANDERMEER J, SHA Q, LANE AP, SCHLEIMER RP. Innate immunity of the sinonasal cavity: expression of messenger RNA for complement cascade components and toll-like receptors. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 130(12): 1374-80.
15. HERTZ CJ, WU Q, PORTER EM, ET AL. Activation of Toll-like receptor 2 on human tracheobronchial epithelial cells induces the antimicrobial peptide human beta defensin-2. *J Immunol* 2003; 171(12): 6820-6.
16. ARMSTRONG L, MEDFORD AR, UPPINGTON KM, ET AL. Expression of functional toll-like receptor-2 and -4 on alveolar epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31(2): 241-5.
17. ZHOU C, KANG XD, CHEN Z. A synthetic Toll-like receptor 2 ligand decreases allergic immune responses in a mouse rhinitis model sensitized to mite allergen. *J Zhejiang Univ Sci B* 2008; 9(4): 279-85.
18. BOASEN J, CHISHOLM D, LEBET L, AKIRA S, HORNER AA. House dust extracts elicit Toll-like receptor-dependent dendritic cell responses. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116(1): 185-91.
19. PRESCOTT SL, NOAKES P, CHOW BW, ET AL. Presymptomatic differences in Toll-like receptor function in infants who have allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122(2): 391-9, 399 e1-5.

20. VANHINSBERGH LJ, POWE DG, JONES NS. Reduction of TLR2 gene expression in allergic and nonallergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007; 99(6): 509-16.
21. LIU RM, ZHANG C, CUI TP, WU JM. The study of correlation between the mRNA expression of Toll-like receptors and cytokines of intracellular CD4+ T cell in splenic macrophages of allergic asthma mice model. *Chin J Lab Med* 2006; 29(8): 698-701.
22. LAUENER RP, BIRCHLER T, ADAMSKI J, ET AL. Expression of CD14 and Toll-like receptor 2 in farmers' and non-farmers' children. *Lancet* 2002; 360(9331): 465-6.
23. EDER W, KLIMECKI W, YU L, ET AL. Toll-like receptor 2 as a major gene for asthma in children of European farmers. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113(3): 482-8.
24. FRANSSON M, ADNER M, ERJEFALT J, JANSSON L, UDDMAN R, CARDELL LO. Up-regulation of Toll-like receptors 2, 3 and 4 in allergic rhinitis. *Respir Res* 2005; 6: 100.
25. CHISHOLM D, LIBET L, HAYASHI T, HORNER AA. Airway peptidoglycan and immunostimulatory DNA exposures have divergent effects on the development of airway allergen hypersensitivities. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113(3): 448-54.
26. REDECKE V, HACKER H, DATTA SK, ET AL. Cutting edge: activation of Toll-like receptor 2 induces a Th2 immune response and promotes experimental asthma. *J Immunol* 2004; 172(5): 2739-43.
27. PATEL M, XU D, KEWIN P, ET AL. TLR2 agonist ameliorates established allergic airway inflammation by promoting Th1 response and not via regulatory T cells. *J Immunol* 2005; 174(12): 7558-63.
28. PULENDRAN B, KUMAR P, CUTLER CW, MOHAMADZADEH M, VAN DYKE T, BANCHEREAU J. Lipopolysaccharides from distinct pathogens induce different classes of immune responses *in vivo*. *J Immunol* 2001; 167(9): 5067-76.
29. FEHRENBACH K, PORT F, GROCHOWY G, ET AL. Stimulation of mast cells via Fc ϵ 2R1 and TLR2: the type of ligand determines the outcome. *Mol Immunol* 2007; 44(8): 2087-94.
30. TAYLOR RC, RICHMOND P, UPHAM JW. Toll-like receptor 2 ligands inhibit TH2 responses to mite allergen. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117(5): 1148-54.
31. MCCURDY JD, OLYNYCH TJ, MAHER LH, MARSHALL JS. Cutting edge: distinct Toll-like receptor 2 activators selectively induce different classes of mediator production from human mast cells. *J Immunol* 2003; 170(4): 1625-9.
32. MARSHALL JS, MCCURDY JD, OLYNYCH T. Toll-like receptor-mediated activation of mast cells: implications for allergic disease? *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 132(2): 87-97.
33. SUPAJATURA V, USHIO H, NAKAO A, ET AL. Differential responses of mast cell Toll-like receptors 2 and 4 in allergy and innate immunity. *J Clin Invest* 2002; 109(10): 1351-9.
34. BOGUNIEWICZ M, LEUNG DY. Pathophysiologic mechanisms in atopic dermatitis. *Semin Cutan Med Surg* 2001; 20(4): 217-25.
35. MATSUI K, NISHIKAWA A. Lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus* induces Th2-prone dermatitis in mice sensitized percutaneously with an allergen. *Clin Exp Allergy* 2002; 32(5): 783-8.
36. ROCHA-DE-SOUZA CM, BERENT-MAOZ B, MANKUTA D, MOSES AE, LEVI-SCHAFFER F. Human mast cell activation by *Staphylococcus aureus*: interleukin-8 and tumor necrosis factor alpha release and the role of Toll-like receptor 2 and CD48 molecules. *Infect Immun* 2008; 76(10): 4489-97.
37. BERIN MC, ZHENG Y, DOMARADZKI M, LI XM, SAMPSON HA. Role of TLR4 in allergic sensitization to food proteins in mice. *Allergy* 2006; 61(1): 64-71.
38. GOLDMAN M. Translational mini-review series on Toll-like receptors: Toll-like receptor ligands as novel pharmaceuticals for allergic disorders. *Clin Exp Immunol* 2007; 147(2): 208-16.
39. RE F, STROMINGER JL. Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 differentially activate human dendritic cells. *J Biol Chem* 2001; 276(40): 37692-9.
40. VERCAMMEN E, STAAL J, BEYAERT R. Sensing of viral infection and activation of innate immunity by toll-like receptor 3. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21(1): 13-25.
41. TAKEDA K, AKIRA S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol* 2005; 17(1): 1-14.
42. AKIRA S, UEMATSU S, TAKEUCHI O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124(4): 783-801.
43. MEDZHITOV R, PRESTON-HURLBURT P, JANEWAY CA, JR. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997; 388(6640): 394-7.

44. ALEXANDER C, RIETSCHEL ET. Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. *J Endotoxin Res* 2001; 7(3): 167-202.
45. POLTORAK A, HE X, SMIRNOVA I, ET AL. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science* 1998; 282(5396): 2085-8.
46. SHA Q, TRUONG-TRAN AQ, PLITT JR, BECK LA, SCHLEIMER RP. Activation of airway epithelial cells by toll-like receptor agonists. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31(3): 358-64.
47. KULKA M, ALEXOPOULOU L, FLAVELL RA, METCALFE DD. Activation of mast cells by double-stranded RNA: evidence for activation through Toll-like receptor 3. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114(1): 174-82.
48. YAMASHITA M, NAKAYAMA T. Progress in allergy signal research on mast cells: regulation of allergic airway inflammation through toll-like receptor 4-mediated modification of mast cell function. *J Pharmacol Sci* 2008; 106(3): 332-5.
49. GON Y. Toll-like receptors and airway inflammation. *Allergol Int* 2008; 57(1): 33-7.
50. MICHEL O, DUCHATEAU J, SERGYSELS R. Effect of inhaled endotoxin on bronchial reactivity in asthmatic and normal subjects. *J Appl Physiol* 1989; 66(3): 1059-64.
51. DONG L, LI H, WANG S, LI Y. Different doses of lipopolysaccharides regulate the lung inflammation of asthmatic mice via TLR4 pathway in alveolar macrophages. *J Asthma* 2009; 46(3): 229-33.
52. SENTHILSELVAN A, RENNIE D, CHENARD L, ET AL. Association of polymorphisms of toll-like receptor 4 with a reduced prevalence of hay fever and atopy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008; 100(5): 463-8.
53. TAKEDA K, KAISHO T, AKIRA S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 335-76.
54. FRANSSON M, BENSON M, ERJEFALT JS, ET AL. Expression of Toll-like receptor 9 in nose, peripheral blood and bone marrow during symptomatic allergic rhinitis. *Respir Res* 2007; 8: 17.
55. TVERSKY JR, LE TV, BIENEMAN AP, CHICHESTER KL, HAMILTON RG, SCHROEDER JT. Human blood dendritic cells from allergic subjects have impaired capacity to produce interferon-alpha via Toll-like receptor 9. *Clin Exp Allergy* 2008; 38(5): 781-8.
56. HORNER AA, VAN UDEN JH, ZUBELDIA JM, BROIDE D, RAZ E. DNA-based immunotherapeutics for the treatment of allergic disease. *Immunol Rev* 2001; 179: 102-18.
57. YAMAMOTO K, KAWAMURA I, ITO J, MITSUYAMA M. Modification of allergic inflammation in murine model of rhinitis by different bacterial ligands: involvement of mast cells and dendritic cells. *Clin Exp Allergy* 2006; 36(6): 760-9.
58. RHEE CS, LIBET L, CHISHOLM D, ET AL. Allergen-independent immunostimulatory sequence oligodeoxynucleotide therapy attenuates experimental allergic rhinitis. *Immunology* 2004; 113(1): 106-13.
59. WILSON DR, TORRES LI, DURHAM SR. Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; (2): CD002893.
60. CALDERÓN MA, ALVES B, JACOBSON M, HURWITZ B, SHEIKH A, DURHAM S. Allergen injection immunotherapy for seasonal allergic rhinitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; (1): CD001936.
61. McCORMACK PL, WAGSTAFF AJ. Ultra-short-course seasonal allergy vaccine (Pollinex Quattro). *Drugs* 2006; 66(7): 931-8.
62. CASALE TB, KESSLER J, ROMERO FA. Safety of the intranasal toll-like receptor 4 agonist CRX-675 in allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 97(4): 454-6.
63. CRETICOS PS, SCHROEDER JT, HAMILTON RG, ET AL. Immunotherapy with a ragweed-toll-like receptor 9 agonist vaccine for allergic rhinitis. *N Engl J Med* 2006; 355(14): 1445-55.
64. TULIC MK, Fiset PO, CHRISTODOULPOULOS P, ET AL. Amb a 1-immunostimulatory oligodeoxynucleotide conjugate immunotherapy decreases the nasal inflammatory response. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113(2): 235-41.
65. SIMONS FE, SHIKISHIMA Y, VAN NEST G, EIDEN JJ, HAYGLASS KT. Selective immune redirection in humans with ragweed allergy by injecting Amb a 1 linked to immunostimulatory DNA. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113(6): 1144-51.

Dirección: María José Herrera Jorquera
 Independencia 1027, Santiago, Chile
 E mail: ma.jose.hj@gmail.com