



UNIVERSIDAD
DE LA REPUBLICA
URUGUAY



Potencialidad de la inmunoterapia en el manejo de las infecciones respiratorias.

Grupo de trabajo: Agustín Rodríguez, Natalia Sánchez, Paulina Scatoni, María Belén Zachow.

Orientador: Prof. Alejandro Chabalgoity

Departamento: Desarrollo Biotecnológico.

Facultad de Medicina, Universidad de la República

2014

Indice

1.	Resumen	3
2.	Introducción	3
2.1.	Epidemiología.....	3
2.2.	Agentes virales de las infecciones respiratorias comunitarias.....	5
2.2.1.	<i>Virus respiratorio sincitial</i>	5
2.2.2.	<i>Influenza</i>	6
2.3.	Agentes bacterianos de las infecciones respiratorias comunitarias.....	7
2.3.1.	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	7
2.3.2.	<i>Haemophilus influenzae</i>	8
2.4.	Agentes intrahospitalario.....	8
3.	Planteamiento del problema	9
4.	Objetivo general	9
5.	Metodología	10
6.	Resultados	10
6.1.	Inmunidad del pulmón.....	10
6.1.1.	<i>Organización del sistema inmune</i>	11
6.1.2.	<i>Inducción de la respuesta inmune</i>	11
6.1.3.	<i>Rol de los efectores de la inmunidad innata</i>	12
6.1.3.1.	<i>Células dendríticas</i>	12
6.1.3.2.	<i>Epitelio</i>	12
6.1.3.2.1.	<i>TLRs</i>	13
6.1.3.2.2.	<i>NLRs</i>	14
6.1.3.3.	<i>Colectinas</i>	15
6.1.3.4.	<i>Macrófagos</i>	16
6.1.3.5.	<i>Natural Killer</i>	16
6.1.3.6.	<i>BALT</i>	17
6.2.	Modulación de la inmunidad como terapia para las infecciones respiratorias.....	17

6.2.1.	<i>Posibles blancos: receptores de la inmunidad innata</i>	19
6.2.1.1.	<i>TLRs como blancos terapéutico</i>	19
6.2.1.2.	<i>NLRs como blancos terapéutico</i>	21
6.2.1.3.	<i>Péptidos antimicrobianos</i>	21
7.	Discusión	22
8.	Perspectivas	24
9.	Referencias	26
10.	Anexos	34

1. Resumen

Las infecciones respiratorias son una importante causa de morbimortalidad a nivel mundial. Las dificultades en su control hacen necesaria la introducción de nuevas terapias que garanticen su prevención y/o tratamiento. El gran avance en el conocimiento de la inmunidad innata en el pulmón, ha permitido en los últimos años la identificación de posibles blancos para terapias inmunológicas. En este trabajo nos proponemos realizar una revisión bibliográfica de las inmunoterapias en desarrollo.

Hasta el momento los principales blancos terapéuticos son los receptores tipo Toll, los receptores tipo NOD y los péptidos antimicrobianos que ofrecen resultados prometedores, si bien hacen falta mayor número de estudios para su recomendación en la práctica diaria.

2. Introducción

2.1. Epidemiología

Las Infecciones Respiratorias Agudas (IRA), constituyen un importante problema de salud pública. En los meses de invierno son el principal motivo de consulta en los distintos servicios de atención, afectan a toda la población y son causa de importante morbimortalidad especialmente en embarazadas, niños y adultos mayores.¹ Sin bien muchas veces cursan como cuadros autolimitados, son altamente contagiosos, por lo que

causan importante ausentismo escolar y laboral, y en ciertos grupos más vulnerables, pueden causar enfermedad significativa e incluso la muerte.

Respecto a la epidemiología, a nivel mundial los estudios que se encuentran disponibles refieren en su mayoría a la población pediátrica, debido a la trascendencia que adquiere esta patología en este grupo etario.

Sobre la base de 89 estudios en niños de entre 0-59 meses realizados en el año 2010 se observó una incidencia de 11,9 millones de infecciones respiratorias agudas bajas (IRAB) severas y 3 millones de IRAB muy severas. Se registraron 265.000 muertes por IRAB severa, de las cuales el 99% ocurrieron en países en desarrollo.²

Rudan estima sobre la base de 28 estudios que de los 156 millones de neumonías anuales, del 7-13 % podrían progresar a una enfermedad grave y requerirían admisión hospitalaria, lo que implica además de la alta morbimortalidad, una carga considerable para los servicios de salud en todo el mundo.³

En nuestro país, dada su importancia, se realiza una vigilancia estricta de las denominadas infecciones respiratorias agudas graves (IRAG), la cual es llevada a cabo por la División de Epidemiología del Ministerio de Salud Pública, en instituciones públicas y privadas de todo el país.

El boletín epidemiológico presentado en agosto de 2012 por esta división mostró que el mayor número de ingresos hospitalarios por IRAG se registra en el grupo etario de menores de 5 años, seguido por los mayores de 65 años, no registrándose diferencias entre uno y otro sexo. Es también en estas poblaciones, en las que los cuadros se presentan con mayor severidad, con una frecuencia de ingresos a la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) y de defunciones francamente mayores a otros grupos. (Ver gráfico 1)⁴

Con respecto a la etiología, las infecciones respiratorias (IR) pueden ser causadas por virus, bacterias, hongos y parásitos. Los virus son los agentes etiológicos más frecuentes, principalmente el *virus respiratorio sincitial (VRS)*, *rinovirus*, los cuatro tipos de *parainfluenzavirus*, *influenza A, B y C* y *adenovirus* en niños.⁵ En nuestro país se realizó un seguimiento entre los años 2006-2012 de los principales virus responsables que mostró que el principal virus involucrado es el virus *influenza*. (Ver gráfico 2).⁴

Otras investigaciones realizadas con fines descriptivos y epidemiológicos, como las llevadas a cabo por la Dra. M. Hortal entre 1983 y 1990, así como el trabajo realizado en la clínica Pediátrica C del Centro Hospitalario Pereira Rossell (CHPR) en 1997 destacan, coincidiendo con la literatura internacional, el rol preponderante de los virus como agentes etiológicos de las IR, responsables del 60-70% de las neumonías que ocurren en lactantes.^{6,7} Según el estudio descriptivo prospectivo realizado entre el 1 de mayo y el 3 de noviembre de 1998, dentro de los virus aislados predominó el VRS, seguido por *influenza A* y *adenovirus*, encontrándose cuatro casos que asociaban VRS e *influenza* y un caso de *adenovirus* y VRS.⁸

Respecto a la distribución de virus por edad, Influenza B prevaleció en casi todos los grupos, con la excepción del grupo de mayores de 65 años, donde H3N2 fue el de mayor proporción. VRS se encontró en menores de 11 meses y de 5 a 9 años, mientras que Parainfluenza se aisló en varios grupos de edad, pero en muy baja proporción. (Ver gráfico 3)⁹

En el Centro Hospitalario Pereira Rossell (CHPR) las IR representan más del 30% de las consultas anuales en el área de emergencia y constituyen la primera causa de internación así como de ingreso a unidades de cuidados intensivos (UCI) pediátricos, representando la primer causa de mortalidad infantil post-neonatal en el país.¹⁰

Como ya se ha mencionado las IR son causadas principalmente por virus y bacterias, de las cuales, debido a su alta frecuencia, profundizaremos en el VRS, *Influenza*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*.

2.2 Agentes virales de las IR

Los virus pueden generar una gran cantidad de infecciones tanto en las vías respiratorias como en el parénquima pulmonar y pueden provocar desde cuadros banales, como un resfrío, a cuadros de gravedad, como una neumonía complicada.¹¹

2.2.1 VRS

Cuando hablamos de infecciones respiratorias en general y particularmente virales, VRS es uno de los agentes más destacados.⁵ Suele manifestarse como simples resfríos en

adultos, mientras que las infecciones graves se dan en niños menores de 4 años y suelen asociarse a factores ambientales.¹²

El VRS posee cuatro variantes de un único serotipo (A, B, no A no B, AB), dentro de los cuales se destacan por su frecuencia el serotipo A y el B, y también por relacionarse con los cuadros más graves.¹³

Las epidemias por este virus se dan al final del otoño, invierno y principios de la primavera. Luego de un primer encuentro con el patógeno la inmunidad que se crea es incompleta y transitoria por lo que se necesitan varios encuentros posteriores para que el huésped logre controlarlo.¹¹

2.2.2 Influenza

En los adultos, sin embargo, el agente viral más frecuentemente involucrado en las infecciones respiratorias es *Influenza*.

Aunque comúnmente se hable de esta enfermedad como una enfermedad benigna, la gripe mata miles de personas por año en el mundo. El virus *influenza* es el patógeno responsable de pandemias históricas pero además cada año se manifiesta en todo el mundo como epidemias. Es por esta razón que se trata posiblemente del virus más estudiado pero, a pesar de esto, no se ha logrado su control.¹³

Influenza posee tres subtipos (A, B y C). Los subtipos A y B poseen nucleoproteínas en la cápside (antígenos internos) que los diferencian entre sí, de manera que el huésped desarrolla anticuerpos frente al subtipo que lo infecte.

Sobre su superficie lipídica poseen antígenos dispuestos regularmente, la neuroaminidasa (NA) y hemaglutinina(HA) quienes definen la variación antigénica (cepa) de cada virus.¹³

Una característica de este virus es su notable variabilidad. Existen dos tipos de variabilidad. Las variaciones menores son las responsables de la gripe epidémica mientras que las variaciones mayores sólo son producidas por las cepas de subtipo A y son las responsables de las pandemias. El serotipo A es el responsable de las pandemias, el B causa gripes estacionales y el C solo cuadros respiratorios aislados. En

los episodios epidémicos la morbilidad en niños y jóvenes es alta pero quienes sufren la mayor mortalidad son los ancianos y personas con comorbilidades.¹³

La vacunación es la base en la prevención de esta enfermedad en la actualidad. En la vacuna se utilizan virus inactivados y se reformulan cada primavera para que contengan los antígenos que están circulando ese año. La vacunación no ha demostrado disminuir la incidencia de epidemias pero si reduce notoriamente la morbimortalidad en especial en la población de niños, adultos mayores, personas portadoras de enfermedades crónicas y embarazadas.¹⁴

2.3. Agentes bacterianos en IR

Los patógenos bacterianos más frecuentes en las infecciones respiratorias son *S. pneumoniae* y *H. influenzae*.

2.3.1 *S. pneumoniae*

S. pneumoniae es un coco Gram positivo, del cual se han descubierto, hasta el momento por lo menos 94 serotipos, que se diferencian por sus diferentes estructuras capsulares. Los serotipos difieren en su virulencia y en su distribución geográfica, lo que dificulta en gran medida la creación de una vacuna eficaz a nivel global para este patógeno.

En cuanto al reconocimiento del pneumococo por componentes del sistema inmune innato, el peptidoglicano es reconocido por los TLR2. La pneumolisina es una potente citotocina que juega un rol importante lisando las células del huésped, inhibiendo el batido mucociliar de las células epiteliales, es capaz de activar la vía clásica del complemento y es reconocida por los receptores TLR4. También se ha influye en el reconocimiento por parte de las células dendríticas, inhibe la activación celular y la producción de citoquinas, así como también, induce la apoptosis por vía dependiente de las caspasas.¹⁵

Las vacunas disponibles en la actualidad protegen frente a un número limitado de serotipos, creados en base a la prevalencia de EEUU. La vacuna 23 valente consiste sólo en polisacáridos capsulares, lo que la hace poco inmunogénicas para los niños. Por este motivo esta vacuna se utiliza en pacientes adultos con un riesgo incrementado de infección neumocócica. En el esquema de vacunación nacional anti pneumococo, se

utiliza la vacuna 13 valente con polisacáridos capsulares conjugados, lo que la hace más inmunogénica para la población pediátrica.

La vacunación ha permitido (desde la introducción de la vacunación hepta-valente) una gran disminución de la incidencia de las enfermedades neumocócicas invasivas en niños. Sin embargo, se ha demostrado un aumento en las enfermedades causadas por serotipos no incluidos en las vacunas. Además es posible que ocurra un cambio capsular que permite evadir la respuesta generada por la vacunación.¹⁶

El tratamiento frente a *S. pneumoniae* ha sido clásicamente la penicilina, pero han aumentado en gran medida las cepas penicilino-resistentes, lo que hace importante la introducción de nuevos tratamientos para esta infección.¹⁷

2.3.2. *H. influenzae*

H. influenzae es una bacilo Gram negativo cuyo huésped habitual es el ser humano, donde coloniza la nasofaringe. Un importante factor de virulencia es el polisacárido capsular, así como también lo son los pili que permiten la adherencia a células epiteliales, siendo una etapa fundamental en la colonización.

La fagocitosis de *H. influenzae* da como resultado la liberación de endotoxina que aumenta aún más la respuesta inflamatoria.

Actualmente en el esquema de vacunación nacional se encuentra la vacunación frente al serotipo b, esto lleva a que la mayoría de las infecciones en la actualidad sean por cepas no encapsuladas, no tipificables.

Desde el surgimiento de cepas productoras de Beta-lactamasas capaces de inactivar la ampicilina, se debe asociar para su tratamiento inhibidores de las betalactamasas. Esta situación común a otras bacterias ha obligado a recurrir a antibióticos de mayor espectro que no han demostrado disminuir la morbi-mortalidad.¹⁸

2.4. Infecciones intrahospitalarias

La neumonía intrahospitalaria es la primera causa de muerte entre las infecciones hospitalarias.¹⁹ Respecto a estas infecciones, los principales patógenos de neumonía intrahospitalaria en adultos son *Pseudomonas aeruginosa* (18.7%), *Staphylococcus Aureus* (20.8%), *Acinetobacter baumannii* (19.8%) y *Klebsiella pneumoniae* (13.3%).²⁰

En niños se confirmó la existencia de infección intrahospitalaria por virus respiratorios, las cuales aumentan la morbimortalidad y los costos asistenciales. Se observaron infecciones intrahospitalarias en 12% de los niños derivados. Estudios realizados en pacientes pediátricos admitidos en UCI en Estados Unidos, reportan una prevalencia entre 6% a 7%, mientras que, en Latinoamérica la prevalencia es mucho mayor, varía entre 7% a 40%. Esto jerarquiza la necesidad de cumplir con las normas establecidas para disminuir la transmisión de la infección en el hospital, incluyendo las recomendaciones de aislamiento según el agente etiológico o la presencia de factores de riesgo en el paciente y el cuidado de las prácticas de procesamiento de los equipos de terapia respiratoria.²¹

3. Planteamiento del problema

A pesar de los esfuerzos para detener el aumento y la propagación de la resistencia antimicrobiana, las bacterias continúan volviéndose menos susceptibles a los fármacos a lo largo del tiempo (en mayor medida a causa de su uso indiscriminado) y el descubrimiento de nuevos antibióticos está decayendo. Asimismo, la otra medida de control disponible hasta el momento, las vacunas, son incapaces de cubrir en su totalidad la amplia gama de patógenos que pueden estar implicados en las infecciones respiratorias, y en algunos casos deben ser reformuladas anualmente debido a las variaciones antigénicas que experimentan muchos de estos patógenos en su proceso evolutivo normal.

Por esta razón, es esencial buscar nuevas alternativas terapéuticas para lograr un mejor control de las infecciones respiratorias. Un enfoque prometedor es el que plantea la inmunoterapia.

4. Objetivo general

Realizar una revisión bibliográfica acerca de la inmunidad en el pulmón, con principal énfasis en la inmunidad innata, y las inmunoterapias disponibles para prevenir y/o tratar las infecciones respiratorias más frecuentes. En base a esta búsqueda pretendemos

realizar un análisis crítico de las mismas sugiriendo si es posible nuevos blancos terapéuticos para estas inmunoterapias.

5. Metodología

Se realizaron búsquedas bibliográficas en la base de datos PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) mediante el uso de palabras clave como “lung respiratory infections”, “epidemiology of acute respiratory infections”, “lung innate immunity”, “immunotherapy” y “bacterial lysate”, utilizando como filtros “Review”, donde se priorizó las citas informadas como muy importantes, y de otras publicaciones de autores especializados en el tema. Se tomó en cuenta el prestigio de las revistas en donde fueron publicados los artículos, así como la fecha de publicación, dando mayor relevancia a las publicaciones posteriores al año 2010. Por otra parte, recibimos artículos de interés por parte de nuestro tutor Prof. Alejandro Chabalgoity, así como de estudiantes de posgrado del servicio Lic. Lucía Rodríguez y Lic. Florencia Ferrara.

6. Resultados

6.1. Inmunidad en el pulmón.

El tracto respiratorio es un sector con mucha actividad inmune. Tiene una superficie de 70 m² que se encuentra prácticamente en contacto directo con el exterior. Ésto determina que el epitelio esté expuesto continuamente a una amplia gama de antígenos, patógenos y no patógenos, por lo que se vuelve fundamental para el tejido distinguirlos para así mantener su homeostasis.²²

La presencia de un rico lecho vascular refleja la importancia de la inmunidad en este tejido, que facilita la llegada de múltiples células del sistema inmune. Sin una estrecha regulación estas células podrían provocar respuestas exageradas frente a los antígenos inocuos, interfiriendo con la función primordial del órgano: el intercambio gaseoso. Un ejemplo de esto, es la acumulación de neutrófilos que frente a determinadas infecciones desencadena injuria pulmonar aguda y síndrome de distrés respiratorio agudo.²³

El balance del sistema inmune requiere entonces la discriminación del ruido antigénico producido por las señales transmitidas por antígenos inertes de las derivadas de microorganismos potencialmente patogénicos, en contacto con dichas superficies. Además es necesaria la regulación estrecha de la activación de las células T memoria para minimizar el daño de la superficie epitelial.

Los mecanismos que utiliza el sistema inmune local para mantener la homeostasis son múltiples, entre los cuales podemos destacar: la organización anatómica de los elementos del sistema inmune en el pulmón, la inducción de la respuesta inmune y el rol de los distintos efectores de la inmunidad innata en el ajuste fino de la respuesta inmune local.²²(Ver figura 1)

6.1.1. Organización del sistema inmune

El pulmón se divide en dos grandes compartimientos funcionales; la vía aérea de conducción recubierta por mucosa y el parénquima pulmonar que comprende los alvéolos especializados en el intercambio gaseoso. Distintas subpoblaciones de células inmunes residen en estas áreas, reflejando las diferentes funciones de los tejidos y de los niveles de exposición a antígenos.²²

La vía aérea está recubierta por epitelio respiratorio que posee células ciliadas y células secretoras que, junto a la secreción local de IgA, facilitan el barrido mucociliar. En la mucosa se encuentran también densas redes de células dendríticas (CD) y macrófagos. Además posee células T en gran número, mastocitos, células plasmáticas y algunas células B diseminadas. Al igual que otras mucosas contiene tejido linfoide asociado a mucosas (MALT), en este caso a los bronquios (BALT), que son sitios con potencial inductivo.²²

En el parénquima pulmonar en cambio, las células dominantes son los macrófagos alveolares, que corresponden a el 90% de todas las células. El restante 10% lo componen células dendríticas y células T en su mayoría, células B y mastocitos dispersos.²⁴

6.1.2. Inducción de la respuesta inmune

Para proteger de las consecuencias de una posible respuesta inflamatoria crónica a la gran cantidad de antígenos ubicuos, el pulmón tiene una actividad inmune basal

predeterminada tolerogénica mediada por células Th2 y células T reguladoras (Treg), mecanismo que estaría bajo control de las CD.²⁵ Existe otro nivel de control para regular la intensidad de la respuesta de las células T de memoria, que consiste en la capacidad de los macrófagos alveolares de inhibir la activación de estas células. Este mecanismo es particularmente importante en el parénquima siendo importante como última línea de defensa en la superficie alveolar. ^{26,27}

En el pulmón al igual que en el intestino o la piel, se produce el fenómeno conocido como “Homing”, pero en este órgano en particular, al poseer dos sistemas de circulación (la sistémica y la pulmonar), las células reclutadas expresan distintos patrones de localización según se dirijan hacia la tráquea y los bronquios o hacia el parénquima pulmonar. Si bien no están aún definidas con exactitud las moléculas y receptores implicados en este proceso, podemos concluir que la expresión selectiva de integrinas es importante para la retención de linfocitos en los diferentes sectores del pulmón. ²⁸

6.1.3. Rol de los efectores de la inmunidad innata

Distintos tipos celulares en el pulmón tienen funciones específicamente adaptadas a este tejido, que junto a otros efectores de la inmunidad innata contribuyen a la regulación fina de la homeostasis.

6.1.3.1. Células dendríticas

Las CD residentes son capaces de captar antígenos manteniendo el epitelio intacto, especializándose en la vigilancia inmunológica, pero no son buenas presentadoras de antígenos. Tienen alta tasa de renovación y son capaces de activarse rápidamente al enfrentarse a un patógeno. ²⁹

Las CD plasmocitoides están implicadas en la inducción de tolerancia a antígenos inhalados.³⁰ Expresan distintos patrones de TLRs y tienen alta capacidad de producir IFN α . ³¹

6.1.3.2. Epitelio

El epitelio de la vía aérea además de brindar protección como mecanismo de barrera, posee en toda su superficie receptores y componentes antimicrobianos que pertenecen al sistema inmune innato. Muchos de los receptores que se conocen de la inmunidad innata

como los receptores tipo Toll (TLRs de su sigla en inglés Toll-Like Receptors) o receptores tipo NOD (NLR de su sigla en inglés NOD-like receptors) participan provocando la liberación de citoquinas y quimioquinas como IL-6, CXCL8, IL-1b, GM-CSF y G-CSF, que median funciones efectoras sobre los patógenos directamente o a través del reclutamiento de células hacia la región como células fagocíticas o células T. Por otro lado, se conoce que el epitelio también produce proteínas con acción antimicrobiana como lisozimas, mucina o lactoferrina como otras proteínas catiónicas.³² (Ver tabla 1)

En primer lugar el reconocimiento de patógenos es llevado a cabo por receptores específicos de motivos moleculares repetidos en microorganismos PRRs (de sigla en inglés Pattern Recognition Receptors) como los TLRs, que han sido los más estudiados, (NOD)-like receptors (NLRs), Rig I like receptors (RLR), C-lectin receptors (CLR) y receptores Scavenger.²³

6.1.3.2.1. TLRs

Hasta el momento se conocen 12 tipos de TLRs en ratones y 10 en humanos.³³ Los diferentes subtipos de TLRs reconocen una amplia variedad de componentes celulares, como por ejemplo el TLR 4³⁴ reconoce LPS y el TLR5 la flagelina.³⁵ La mayoría de ellos están presentes en el pulmón (1-6, 9) y se conoce su función en respuesta a distintos patógenos causante de IR del tracto respiratorio inferior. Por ejemplo, el TLR2, que reconoce peptidoglicanos y lipoproteínas bacterianas, parece ser crucial para la respuesta frente a bacterias extracelulares como *S. pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *S. aureus*, e intracelulares como *L.pneumophila*, *C. pneumoniae*, *M pneumoniae*.³⁶

Los TLRs funcionan como homodímeros, a excepción del TLR2 que se dimeriza con TLR1 y TLR6 con diferente especificidad de ligandos. TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 y TLR6 están localizados en la superficie celular mientras que TLR3, TLR7 Y TLR9 se encuentran en la membrana endosomal. La estimulación de los TLR lleva a el reclutamiento de moléculas adaptadoras en el citoplasma celular, que se unen al dominio TIR (intracelular) de los TLR, lo cual lleva a la posterior cascada que culmina con la activación del factor de transcripción NF-κB y la producción de citoquinas y quimioquinas pro-inflamatorias.³⁷(Ver figura 2)

Hay cinco tipos distintos de moléculas adaptadoras (MyD88, TRIF, TIRAP, TRAM y SARM). La señal desencadenada por los TLRs es sin embargo mayoritariamente transferida hacia MyD88 (a excepción de TLR3).³²

El reclutamiento de MyD88 inicia una extensa cascada de traducción por medio de un conjunto de quinasas y factores de transcripción, que llevan posteriormente a la activación de IKK y subsecuentemente NF- κ B. Esta activación culmina con la expresión de factores de crecimiento, quimioquinas, citoquinas, y moléculas de adhesión celular, que sirven principalmente para la acumulación de neutrófilos en el sitio de infección.

Estudios en ratones deficientes en MyD88 han demostrado la importancia de esta molécula para la defensa del huésped contra bacterias tales como *S. pneumoniae*³⁸ y *H. influenzae*³⁹. Se ha observado también en humanos con MyD88 mutado la pérdida de protección frente a algunos patógenos.⁴⁰

6.1.3.2.2. NLRs

Por su parte, los NLRs regulan tanto la inflamación como la apoptosis, se conocen 23 NLRs en la actualidad, siendo los receptores NOD (de su sigla en inglés nucleotide oligomerization domain–like receptors) parte de esta familia de proteínas.⁴¹ Los receptores tipo NOD han sido ampliamente estudiados dado que su mutación se encuentra asociada con enfermedades inflamatorias tales como la enfermedad de Crohn. La estimulación de los NOD1 y NOD2 (los más conocidos en la actualidad) resulta en la activación del factor NF- κ B y MAPK, paso fundamental para el control de las infecciones causadas por *S. pneumoniae*.⁴² NOD1 se expresa en varios tipos celulares incluyendo a las células epiteliales pulmonares, células endoteliales, células del músculo liso de las vías aéreas, así como en diferentes tipos de leucocitos. Su activación se produce como respuesta a peptidoglicanos. NOD2 ha sido encontrada en los macrófagos alveolares, neutrófilos y células epiteliales de los bronquios, y reconocen el dipéptido muramilo (muramyl-dipeptide, MDP) que se encuentra en el peptidoglicano de la mayoría de las bacterias. La activación de ambos receptores lleva a una cascada de señales vía Rip2-quinasa que culmina con la expresión de diferentes citoquinas, quimioquinas y péptidos antimicrobianos.⁴³

Existe también otro subgrupo de NLRs, los NLRPs, que comprende 14 proteínas, de las cuales NLRP1, NLRP3, NLRP6, NLRP7, y NLRP12 son capaces de formar complejos multi-proteicos denominados inflamasomas, formados por una o dos proteínas NLR, una molécula adaptadora ASC, y pro-caspasa-1.⁴⁴ Los inflamasomas sirven como plataformas para la activación autocatalítica de la caspasa-1, necesaria para regular la producción de IL-1 β e IL-18 mediante el procesamiento de proIL-1 β y proIL-18, y también es capaz de inducir una forma inflamatoria de muerte celular llamada pyroptosis.⁴⁵

El inflamasoma también se ha visto implicado en la producción de eicosanoides. Además existen NLRPs, tales como el NLRP6 y el NLRP12 que cumplen funciones inflamasoma-independientes, tales como la regulación negativa de la cascada de señales de la inmunidad innata.

6.1.3.3. *Colectinas.*

Cubriendo la superficie alveolar se encuentra el surfactante, una mezcla de lípidos y proteínas que posee dos colectinas que son reconocidas por su función en la inmunidad innata. Estas son las colectinas hidrosolubles A y D (SP-A, SP-D).

Se ha estudiado la función inmunomoduladora de SP-A y SP-D y los mecanismos posibles de acción directa sobre microbios, la fagocitosis por parte de macrófagos y la modulación de la inflamación.

SP-A y SP-D se unen a una amplia variedad de bacterias y virus, interactuando directamente con ellos. En las bacterias gram negativas los LPS de la membrana son reconocidos por potenciar la inflamación.⁴⁶ Los diferentes tipos de colectinas se unen a distintos LPS y de esta manera se activan de forma particular frente a cada bacteria. En los virus también existen proteínas con las que interactúan específicamente.

Las colectinas contribuyen a la eliminación de bacterias y actúan sobre los macrófagos aumentando su fagocitosis. En un estudio con ratones knock out para SP-A y SP-D se vio una disminución del número de fagocitosis por macrófago cuando se exponen a *estreptococos del grupo B*, *P. aeruginosa* o *H. influenza* intratraqueal.^{47, 48,49}

También se demostró que la deficiencia de SP-A provoca disminución de la eliminación de VRS y este se restablece si se coadministra en forma exógena SP-A.⁵⁰

Otra acción destacada de las colectinas es la modulación de la inflamación. La unión a LPS patógenos es un hecho importante para el barrido ciliar, ya que los LPS que poseen las bacterias de la flora habitual pulmonar no se unen a SP-A y cuando se encuentran con estos, se inhibe la producción de TNF alfa. En contraste SP-A aumenta la producción de TNF α cuando los LPS son procedentes de patógenos.

La acción antiinflamatoria de SP-A se demostró en estudios con ratones deficientes en SP-A, la introducción traqueal de LPS no patógenos provocó gran inflamación pulmonar.⁵¹ Las colectinas actúan en la modulación de la inflamación al cortar la activación de NF κ B en células que expresan TLR2 y TLR4/MD2 que fue provocada por el contacto con LPS y peptidoglicano (PGN).

6.1.3.4. Macrófagos

Los macrófagos alveolares en su estado basal tienen como principal función la fagocitosis y el secuestro de los antígenos. Otra de sus funciones es la supresión de la inducción de la inmunidad adaptativa en forma directa a través de mediadores como el óxido nítrico, TGF- β y la IL-10, aunque en la actualidad se plantea como otro mecanismo indirecto la supresión de la acción de las células epiteliales.⁵²

Los mastocitos, al activarse por múltiples mecanismos incluidos los TLRs y los receptores específicos del complemento, son capaces de promover la activación de la inmunidad innata mediante la secreción de una gran variedad de productos. Además pueden ser fagocíticas, reclutar neutrófilos, estimular la producción de IgE por parte de las células B y promover la proliferación de las células T. Muchas líneas de evidencia han demostrado que los mastocitos y sus productos pueden influir en la regulación de las CD y por tanto en la polarización de las células T.²²

6.1.3.5. Natural Killer

Las células Natural Killer (NK) y las Natural Killer invariantes (iNK) tienen distintos roles en el mantenimiento de la homeostasis inmunológica. El déficit de células NK se asocia a inhabilidad de controlar las infecciones virales, en el caso de pulmón específicamente están implicadas en el control de las infecciones por patógenos tales como, *Mycobacterium tuberculosis*⁵³, influenza virus⁵⁴ y VRS, entre otros. Las células iNK se

diferencian en que expresan CD3 y un receptor con una cadena α invariante. Responden a antígenos glicolípidos presentados por CD1d, y producen grandes cantidades de $\text{INF-}\gamma$ e interleuquina-4⁵⁵, a pesar de que los mecanismos de regulación de la expresión de citoquinas permanecen desconocidos.

6.1.3.6. *BALT*

Tal como fue mencionado anteriormente, BALT forma parte del tejido linfoide asociado a mucosas. Se reconoce que BALT contiene una estructura muy organizada de áreas de células T y B, vénulas con endotelio alto (HEVs de su sigla en inglés “high endothelial venules”) en la zona de células T, y están recubiertas por un epitelio linfoide con células similares a las encontradas en las Placas de Peyer. Contiene también CD foliculares encargadas de presentar los antígenos a las células B y estimular su activación y proliferación en los centros germinales.⁵⁶

En la actualidad, es sabido que la presencia de BALT no se encuentra pre-programado, sino que se desarrolla en el período post-natal, en el contexto de infecciones, enfermedades inflamatorias crónicas o autoinmunes, por lo que se prefiere denominarlas BALT inducidas (iBALT). Es de destacar que la presencia de BALT difiere en distintas especies estando generalmente ausente en humanos saludables, mientras que son comunes por ejemplo en las ratas.⁵⁷ Sin embargo hasta el 50% de los niños saludables presentan BALT⁵⁸, hecho que se asocia con la exposición antigénica.⁵⁹

Una de las causas de formación de iBALTs son las infecciones virales, esto se ha demostrado en ratones a los cuales se les ha inoculado durante 10 días el virus influenza.⁶⁰ También sucede con las infecciones bacterianas, donde la exposición a LPS es suficiente para dirigir el proceso de neogénesis linfoide en el pulmón.⁶¹

Si bien en el contexto de las infecciones, la formación de BALT tiene un rol beneficioso, esto no sucede en el contexto de otras enfermedades como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), en las que la formación se correlaciona con su severidad.⁶²

6.2. Modulación de la inmunidad como terapia para las infecciones respiratorias.

La terapia de inmunomodulación dirigida, consiste en explotar los mecanismos naturales de defensa del hospedador, ya sea iniciando o potenciando los mismos, con el objetivo

de brindar protección antimicrobiana intentando al mismo tiempo limitar el daño tisular producido por la reacción inflamatoria.⁶³

¿Por qué la inmunoterapia podría ser una buena estrategia terapéutica para controlar las infecciones respiratorias? La inmunomodulación ofrece ciertas ventajas, ya que al actuar sobre el hospedador y no sobre el patógeno, evita la aparición de resistencia antimicrobiana. Además, la naturaleza no específica de la inmunidad innata sugiere que su modulación brinda protección de amplio espectro frente a una amplia gama de microorganismos patógenos.⁶³ Esta característica destaca su utilidad en tratamientos profilácticos en pacientes de alto riesgo y en el tratamiento empírico de infecciones en las que no ha sido posible identificar el agente causal. Por otro lado, la activación inapropiada de la inmunidad puede resultar en una respuesta pro-inflamatoria dañina y en lesión tisular, como se observa en enfermedades inflamatorias, sepsis y algunas infecciones respiratorias virales.⁶³ Por esto, la aplicación exitosa de terapias inmunomoduladoras requiere de la estimulación controlada de la inmunidad, sin un aumento de la respuesta pro-inflamatoria sistémica.

Un considerable número de potenciales moduladores inmunológicos han sido propuestos, entre ellos, péptidos reguladores de la inmunidad innata y agonistas de los TLRs y NLRs. La habilidad de modular la respuesta inmune, ya sea suprimiéndola o potenciándola, es una estrategia terapéutica útil que puede ser utilizada en diversos contextos, como ser en la prevención y el tratamiento de las infecciones, en la supresión de la respuesta autoinmune e inflamatoria, y en la estimulación de la inmunidad antitumoral en pacientes con cáncer.⁶³ En las últimas décadas la inmunoterapia ha sido objeto de numerosas investigaciones sobre todo en el campo de la oncología y enfermedades atópicas, donde su uso terapéutico se ha implementado con buenos resultados. No sucede lo mismo en cuanto a la investigación en el área de las infecciones respiratorias donde su uso es limitado, en este campo al igual que en los anteriores, se espera obtener resultados favorables.

Si bien hasta el momento el uso de inmunoterapias es escaso, algunas de ellas han sido importantes en el control de las infecciones respiratorias. Se han utilizado como terapias

adyuvantes, para apoyar y ampliar la efectividad de los antibióticos y antivirales. Un ejemplo son los interferones de tipo I (IFNs), que han sido utilizados en la clínica para estimular la respuesta inmune en pacientes con infecciones virales.

Las vacunas constituyen una forma de terapia inmunomoduladora y es una de las formas de intervención médica para la prevención de enfermedades infecciosas más exitosa y costo efectiva en el mundo, pero como se mencionó anteriormente, presenta grandes limitaciones.

Actualmente se estudia el potencial de estimular la inmunidad innata utilizando diferentes moduladores tales como agonistas de los PRRs, péptidos antimicrobianos (HDP) y otros ligandos bacterianos.

6.2.1 Posibles blancos de la inmunidad innata

Los agonistas de TLRs y NLRs estimulan la inmunidad innata a través de los mismos mecanismos que los microorganismos: utilizando los mismos receptores, vías de señalización y efectores. El desafío en su aplicación radica en evitar la respuesta inmune patológica que generan los microorganismos buscando que la inflamación sea un proceso autolimitado.

6.2.1.1 TLRs como blancos terapéutico

Los TLRs son blancos de importantes inmunoterapias aprobadas y existen aún más en fase de investigación.⁶⁴ (Ver tabla 1)

En lo que respecta a las infecciones respiratorias, un agonista de varios TLRs, CADI-05 (*Mycobacterium indicus pranii* muerta) y probablemente también de otros PRRs, se utiliza como terapia adyuvante en combinación con drogas antimicrobianas para el tratamiento de la lepra y está en fase III de ensayo clínico como potencial terapia para la tuberculosis.

Por otro lado, los preparados de *lisados bacterianos* también han mostrado alguna eficacia contra infecciones respiratorias⁶⁵ por ejemplo Luiva, un preparado que contiene antígenos de 7 bacterias comunes en la infecciones del tracto respiratorio, ha disminuido el número, la duración, la severidad y el uso de antibióticos en las IR tanto en niños como en adultos.⁶⁶ Si bien estos datos suenan muy prometedores son necesarios más estudios

y sobre todo estudios que incluyan mayor número de pacientes que permitan recomendar el uso de lisados microbianos a nivel global. Se evidenció la respuesta de la inmunidad innata al observarse expresión de diferentes PRRs tales como los TLR. Su administración ha producido activación de monocitos, maduración de células dendríticas y un incremento en la concentración sérica de IgA.⁶⁷

Evidencia en modelos animales sugieren la posibilidad que los agonistas TLR pueden actuar como potentes adyuvantes en vacunas, inducir el aclaramiento/clearance de bacterias y promover la protección contra futuras infecciones o colonización por organismos patógenos, recalcando el carácter inespecífico de la respuesta.

Estudios recientes en ratones han demostrado que el LPS (agonista del TLR4) administrado en el curso de una infección con *Bordetella pertussis*, ofrece protección parcial contra la misma⁶⁸ y el tratamiento con flagelina (agonista del TLR5) protege de forma similar contra la infección por *S. pneumoniae* y *P. aeruginosa* cuando se administra tanto simultánea a la infección como frente a posteriores encuentros.^{69,70}

El rol de la microbiota en la inmunidad está siendo reconocido en la actualidad y es objeto de numerosas investigaciones. Actúa modulando la actividad local y sistémica por interacción con las células epiteliales de la mucosa, las células del sistema inmune, y además ofrece protección a través de la competición directa con las bacterias patógenas. poseen un efecto pro y antiinflamatorio, aumentando las defensas y promoviendo el mantenimiento de la homeostasis en la mucosa. Podrían considerarse como agonistas de TLRs al contener moléculas señales que son reconocidas por ellos, por lo que podría considerarse a futuro otra estrategia inmunomoduladora efectiva para prevenir infecciones.

A pesar de lo prometedor que resulta lo mencionado anteriormente, por la complejidad intrínseca de la interacción huésped – patógeno, los resultados de la estimulación de la inmunidad innata son difíciles de predecir y es por esto que su modulación debería ser tomada con precaución. se necesita mayor evidencia para implementarlo en la práctica clínica.

6.2.1.2 NLRs como blancos terapéuticos

La estimulación de la inmunidad innata a través de la activación de NLRs resulta importante para el mecanismo de impronta de la inmunidad adaptativa. Activadores de los NLR, como los muropéptidos, podrían ser utilizados potencialmente como adyuvantes de vacunas. Hasta la fecha los agonistas de NLRs han sido utilizados principalmente para potenciar tanto la respuesta de la inmunidad innata como la de la inmunidad adaptativa. Además de su potencial uso como adyuvantes, muchos agonistas NOD muestran propiedades anti-infecciosas. El primer agonista utilizado por su potencial aplicación clínica fue un derivado MDP llamado murabutide, un agonista NOD2, con actividad inmunomoduladora no específica en individuos infectados con HIV-1.⁷¹ Otras evidencias de estas propiedades anti infecciosas han mostrado que ligandos de NOD1 tienen efecto protector en ratones cuando son administrados en forma oral o parenteral antes de la infección sistémica con diferentes bacterias. El tratamiento de ratones con agonistas NOD puede potenciar la protección del hospedador contra la sepsis, numerosas infecciones bacterianas, virales y hasta parásitos.⁷²

Muropéptidos inmunomoduladores en combinación con antibióticos ofrecen mejor resistencia contra la infección de bacterias, parásitos y hongos⁷³ e incluso en algunos casos puede disminuir la dosis efectiva del antibiótico utilizado. Esto sugiere que los muropéptidos pueden ser una buena terapia adyuvante a los antibióticos convencionales. El mayor inconveniente es que deben administrarse en forma profiláctica para promover la inmunidad anti infecciosa.

Un estudio reciente mostró que infecciones virales regulan en más la expresión y actividad de NOD1, NOD2 y RIP2. Cuando la infección viral es seguida de una sobreinfección bacteriana, esta actividad en más de las vías NOD puede llevar a una inflamación descontrolada e incluso la muerte, por lo que el uso de antagonistas NOD podría bloquear la respuesta pro inflamatoria y disminuir la morbimortalidad.

6.2.1.3 Péptidos reguladores de la inmunidad innata

Los péptidos antimicrobianos producidos por células de la inmunidad innata, y células epiteliales, cumplen un importante rol en las mucosas.

Si bien éstos péptidos poseen cierta actividad antimicrobiana directa, su función anti infecciosa se debe en mayor parte a los efectos inmunomoduladores en el huésped. La combinación de efectos inmunomoduladores como inducción de citoquinas y estimulación de diferenciación celular, con actividades reguladoras como la supresión de respuesta celular pro inflamatoria a LPS y IFN γ , indica que los péptidos actúan para promover una resolución no inflamatoria de las infecciones.⁷⁴

Estos péptidos naturales proveen un modelo para la producción de péptidos sintéticos. En estos compuestos se intenta mejorar la respuesta antibacteriana directa mencionada. Los péptidos inmunomoduladores ofrecen muchas ventajas: menos probabilidad de resistencia, menor toxicidad para las células huésped y requieren menos dosis.

Éstos péptidos se han utilizado en infecciones bacterianas con patógenos resistentes a antibióticos y en desórdenes inflamatorios, lo que refleja la actividad combinada de inmunoestimulación y propiedades reguladoras. Si bien la administración sistémica es segura, la mayor parte de los ensayos clínicos se han enfocado en aplicaciones tópicas lo cual resultaría en una activación principalmente local evitando así efectos sistémicos.

La accesibilidad del epitelio pulmonar para las terapias inhalatorias hace posible estimular las defensas antimicrobianas locales con ligandos de la inmunidad innata en aerosoles. Esta estrategia ha mostrado ser efectiva en modelos animales. La resistencia parece ser mediada por las células epiteliales activadas más que por el reclutamiento de leucocitos, esto llevó a pensar que su manipulación terapéutica podría ser de ayuda para promover resistencia frente a infecciones.

7.Discusión

Las IR son un gran problema de salud, tanto por su alta morbimortalidad así como por los problemas que existen actualmente para su control. En vista de las características anatomofuncionales del pulmón que determinan que exista alta actividad del sistema inmune en este tejido, surge la inmunoterapia como una alternativa prometedora.

Revisando la bibliografía encontramos numerosas alternativas de modulación inmunológica que prometen ser revolucionarias si se logran llevar a cabo con éxito.

Entre los efectores que participan en la inmunidad del pulmón, consideramos fundamental el rol del epitelio, que ha pasado de ser reconocido exclusivamente como un mecanismo pasivo de defensa, para considerarse actualmente como un mecanismo activo de la inmunidad dada su importancia a la hora de responder y dirigir la respuesta inmune.

En cuanto a los PRRs, consideramos que su manipulación resulta de especial interés para plantear terapias inmunomoduladoras que puedan ofrecer control de las IR. En primer lugar, muchos de los patógenos implicados son reconocidos a través de este número limitado de receptores, y comparten los receptores y posteriores vías de señalización. Esto hace pensar en la posibilidad de generar protección cruzada, gracias a la amplia especificidad de su respuesta. Podrían utilizarse entonces no sólo como tratamiento de amplio espectro o tratamiento empírico, sino también en vistas a tratamientos profilácticos. De todos modos, como sabemos que la estimulación de TLRs es un fuerte inductor inflamatorio, se requiere especial precaución o más trabajos que prevean cómo evitar la estimulación excesiva que podría producir daños importantes.

Los TLRs no solo pueden ser activados por los microorganismos patógenos sino también por las bacterias que colonizan las mucosas y conviven en simbiosis con el huésped, por lo que la microbiota podría ser utilizada también para generar esta respuesta. Además, algunas ventajas como su fácil acceso, la ausencia teórica de efectos adversos y la combinación de sus efectos pro y anti inflamatorios, que promueven el mantenimiento de la homeostasis, hacen que parezca una opción atractiva. Si bien parece ofrecer muchas ventajas, se necesitan más pruebas y establecer los grupos que se beneficiarían más con este tratamiento antes de comenzar con su uso clínico.

Respecto a los NODs, como fue mencionado en la sección anterior, agonistas como los muropéptidos podrían utilizarse como adyuvantes del tratamiento antibiótico, contribuyendo en el control de la resistencia antibiótica. En contraste con el concepto de regular en más la actividad de los receptores para potenciar la activación inmune, la habilidad de bloquear la función de los NODs podría ser ventajosa en algunos casos puntuales, como en las infecciones virales seguidas de sobreinfección bacteriana, importante problema de salud tanto a nivel comunitario como intrahospitalario.

Como hemos mencionado anteriormente MyD88 es el nodo de convergencia de la activación de varios TLR, por lo que resulta un blanco interesante para realizar tratamientos inmunomoduladores. El problema radica en la ubicación intracelular que posee siendo necesario realizar avances tecnológicos que faciliten su acceso.

El hecho de que péptidos reguladores de la inmunidad innata ofrecen protección contra infecciones bacterianas al mismo tiempo que suprimen la inflamación excesiva en modelos animales, revela que es posible separar los mecanismos protectores de inmunidad innata de la inflamación, y promueve la idea de que inmunomoduladores efectivos y seguros podrían ser desarrollados en el futuro.

Todos los posibles ligandos de la inmunidad innata que hemos discutido podrían actuar sinérgicamente bajo ciertas circunstancias y combinaciones, aumentando de esta manera la amplitud de la respuesta. La inducción de resistencia antimicrobiana innata en los pulmones puede tener aplicaciones clínicas en la prevención de infecciones del tracto respiratorio inferior en grupos de alto riesgo, como en pacientes con cáncer bajo tratamiento con quimioterapia, paciente recibiendo ventilación mecánica, individuos vulnerables durante epidemias estacional de influenza, asmáticos cursando infecciones respiratorias virales, etc. Cabe destacar que la regulación adecuada es un tema central en estas terapias, regular la inflamación que se produzca luego de la activación es esencial para evitar reacciones excesivas que puedan dañar el organismos y causar más daños que soluciones.

8.Perspectivas

La inmunidad adaptativa ha sido por largo tiempo definida por su alta especificidad y capacidad de generar memoria, mientras que la inmunidad innata se ha caracterizado por tener un rango de especificidad marcadamente menor, no generar memoria y requerir sólo minutos para su activación. Sin embargo, en la actualidad se ha comenzado a considerar que la memoria no sólo es generada por la inmunidad adaptativa, sino que la inmunidad innata a través de sus células efectoras NK y macrófagos son capaces de producir memoria y mejorar la protección frente a reinfecciones, tanto con el mismo

microorganismo como con otro. Netea et al. a propuesto llamar “inmunidad entrenada” (trained immunity) a este fenómeno basados en estudios en plantas y animales.⁷⁵ Un hallazgo que apoya esta propuesta, fue la disminución de la mortalidad por infecciones no tuberculosas observada luego de la vacunación con BCG en niños de África, sugiriendo que se trata de inmunidad no específica.⁷⁶

Las células NK, células prototipo de la inmunidad innata muestran algunas características propias del sistema adaptativo. Luego de una segunda infección por citomegalovirus, se desgranulan más rápido induciendo una respuesta inmune característica.⁷⁷

Desentrañar las propiedades de la memoria innata revolucionaria la comprensión de las defensas inmunológicas y podría conducir a nuevas vacunas e inmunoterapias.

A pesar de todas las alternativas inmunomoduladoras que se han discutido, la revisión crítica de la literatura nos permite presuponer que en el futuro las investigaciones se dirigirán hacia la microbiota y los péptidos antimicrobianos debido a que parecerían tener igual efectividad con un mejor control de los efectos no deseados.

Por último, consideramos necesario destacar las diferentes vías de administración de las terapias que no hemos abarcado en el trabajo pero que actualmente está siendo objeto de muchas investigaciones. Conociendo que el epitelio pulmonar es un tejido de fácil acceso, terapias locales por medio de aerosoles permitiría minimizar posibles efectos adversos a nivel sistémico. Por otro lado la administración por vía sublingual (SLIT, del inglés Sublingual Immunotherapy), es otra propuesta que está siendo evaluada en la actualidad y estudios, como el realizado recientemente en nuestro medio sugieren que este mecanismo de inoculación provee incluso mayor seguridad que la administración directa por vía intranasal. SLIT es capaz de modular la respuesta inmune de diferentes maneras, ya sea activandola y promoviendo la protección frente a infecciones del tracto respiratorio como induciendo tolerancia frente a alérgenos, destacando su posible uso en terapias para las enfermedades atópicas. Este tipo de terapia podría utilizarse tanto en el tratamiento como en la prevención de infecciones respiratorias.⁷⁸

9. Referencias

1. World Health Organization. The World Health report 2004—changing history. Geneva: World Health Organization; 2004.
2. Nair, Harish et al. "Global and regional burden of hospital admissions for severe acute lower respiratory infections in young children in 2010: a systematic analysis." *The Lancet* 381.9875 (2013): 1380-1390.
3. Rudan I, Boschi-Pinto C, Biloglav Z, Mulholland K, Campbell H. "Epidemiology and etiology of childhood pneumonia". *Bull World Health Organ* 2008; 86: 408-416
4. Departamento de Vigilancia en Salud de la División Epidemiología del Ministerio de Salud Pública, 2012.
5. Rey, C Calvo et al. "Infecciones respiratorias virales." *Protocolos diagnóstico-terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica.* (2008)
6. Hortal M, Benítez A, Contera M, Etoarena P, Montano A, Meny M. A Community-Base Study of Acute Respiratory Tract Infections in Children in Uruguay. *Rev Infect Dis* 1990; 12(8): 966-73
7. Bellinzona G, Rubio I, Ascione A, Finkelstein R, Glaussius G, Klein M, et al. Diagnóstico de virus respiratorios asociados a las infecciones respiratorias agudas bajas. Procedente del 21^a Congreso Uruguayo de Pediatría. 1997, oct. 2-4; Montevideo, Uruguay.
8. Spremolla, Andrea et al. "Investigación de virus respiratorios en niños menores de dos años hospitalizados por infección respiratoria aguda baja." *Arch Pediatr Urug* 74.3 (2003): 176-81.
9. Informe de la vigilancia nacional universal de infecciones respiratorias agudas graves 2010
10. Administración de Servicios de Salud del Estado. "Infecciones respiratorias agudas graves." *Archivos de Pediatría del Uruguay* 82.2 (2011): 78-90.
11. M^a. Á. Marcos Maeso, M^a. N. de Benitoi Hernández, C. Rodrigo Gonzalo de Liria, N. Rabella García, J. Fabrega Sabaté. "Viriasis respiratorias". En: Rozman,

- Farreras, and CL Farreras. "Tratado de medicina Interna". 16ª edición 2009. p 2512-2521
12. Machado, Maren K, María José Guala, and Catalina Pérez. "Virus respiratorio sincial: identificación reiterada en niños." *Archivos de Pediatría del Uruguay* 78.4 (2007): 281-286.
 13. S. Mateos. "Virus respiratorios". En: Departamento de bacteriología y virología. "Temas de Bacteriología y Virología Médica" 3ª edición. Uruguay 2008. p 163-185
 14. R. Ortiz de Lejarazu Leonardo, J. J. Castrodeza Sanz. "Gripe". En: Rozman, Farreras, and CL Farreras. "Tratado de medicina Interna". 16ª edición. 2009. p 2521-2527.
 15. Littmann, Marie et al. "Streptococcus pneumoniae evades human dendritic cell surveillance by pneumolysin expression." *EMBO molecular medicine* 1.4 (2009): 211-222
 16. Bergmann, Simone, and Sven Hammerschmidt. "Versatility of pneumococcal surface proteins." *Microbiology* 152.2 (2006): 295-303.
 17. Henriques-Normark, Birgitta, and Elaine I Tuomanen. "The pneumococcus: epidemiology, microbiology, and pathogenesis." *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* 3.7 (2013): a010215.
 18. Wong, Sandy MS, and Brian J Akerley. "Genome-scale approaches to identify genes essential for Haemophilus influenzae pathogenesis." *Frontiers in cellular and infection microbiology* 2 (2012).
 19. Flanders SA, Collard HR, Saint S. Nosocomial pneumonia: state of the science. *Am J Infect Control* 2006;34:84–93.
 20. División epidemiología. Control de Infecciones Hospitalarias. Uruguay 2008-2009
 21. Richards M, Edwards J, Culver D, Gaynes R. Nosocomial infections in pediatric intensive care units in the United States. *Pediatrics* 1999; 103(4): 1-7.
 22. Holt, Patrick G et al. "Regulation of immunological homeostasis in the respiratory tract." *Nature Reviews Immunology* 8.2 (2008): 142-152.

23. Mizgerd, Joseph P. "Acute lower respiratory tract infection." *New England Journal of Medicine* 358.7 (2008): 716-727.
24. Strickland, D. H., Kees, U. R. & Holt, P. G. Regulation of T-cell activation in the lung: isolated lung T-cells exhibit surface phenotypic characteristics of recent activation including downmodulated TcR, but are locked into G0/G1 phase of the cell cycle. *Immunology* 87, 242–249 (1996)
25. Umetsu, Dale T, and Rosemarie H DeKruyff. "The regulation of allergy and asthma." *Immunological reviews* 212.1 (2006): 238-255.
26. Gereda, JE et al. "Relation between house-dust endotoxin exposure, type 1 T-cell development, and allergen sensitisation in infants at high risk of asthma." *The Lancet* 355.9216 (2000): 1680-1683.
27. Lambrecht, Bart N. "Alveolar macrophage in the driver's seat." *Immunity* 24.4 (2006): 366-368.
28. Kohlmeier, Jacob E, Shannon C Miller, and David L Woodland. "Cutting edge: Antigen is not required for the activation and maintenance of virus-specific memory CD8+ T cells in the lung airways." *The Journal of Immunology* 178.8 (2007): 4721-4725.
29. Stumbles, Philip A et al. "Resting respiratory tract dendritic cells preferentially stimulate T helper cell type 2 (Th2) responses and require obligatory cytokine signals for induction of Th1 immunity." *The Journal of experimental medicine* 188.11 (1998): 2019-2031.
30. De Heer, Hendrik Jan et al. "Essential role of lung plasmacytoid dendritic cells in preventing asthmatic reactions to harmless inhaled antigen." *The Journal of experimental medicine* 200.1 (2004): 89-98.
31. Masten, Barbara J et al. "Characterization of myeloid and plasmacytoid dendritic cells in human lung." *The Journal of Immunology* 177.11 (2006): 7784-7793
32. Parker, Dane, and Alice Prince. "Innate immunity in the respiratory epithelium." *American journal of respiratory cell and molecular biology* 45.2 (2011): 189-201.

33. Kumar, Himanshu, Taro Kawai, and Shizuo Akira. "Pathogen recognition by the innate immune system." *International reviews of immunology* 30.1 (2011): 16-34.
34. Poltorak, Alexander et al. "Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene." *Science* 282.5396 (1998): 2085-2088.
35. Hayashi, Fumitaka et al. "The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5." *Nature* 410.6832 (2001): 1099-1103.
36. Eddens, Taylor, and Jay K Kolls. "Host defenses against bacterial lower respiratory tract infection." *Current opinion in immunology* 24.4 (2012): 424-430.
37. Balamayooran, Theivanthiran, Gayathriy Balamayooran, and Samithamby Jeyaseelan. "Review: Toll-like receptors and NOD-like receptors in pulmonary antibacterial immunity." *Innate immunity* 16.3 (2010): 201-210.
38. Albiger, Barbara et al. "Myeloid differentiation factor 88-dependent signalling controls bacterial growth during colonization and systemic pneumococcal disease in mice." *Cellular microbiology* 7.11 (2005): 1603-1615.
39. Wieland, Catharina W et al. "The MyD88-dependent, but not the MyD88-independent, pathway of TLR4 signaling is important in clearing nontypeable haemophilus influenzae from the mouse lung." *The journal of immunology* 175.9 (2005): 6042-6049.
40. von Bernuth, Horst et al. "Pyogenic bacterial infections in humans with MyD88 deficiency." *Science* 321.5889 (2008): 691-696.
41. Franchi, Luigi et al. "Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors: intracellular pattern recognition molecules for pathogen detection and host defense." *The Journal of Immunology* 177.6 (2006): 3507-3513.
42. Opitz, Bastian et al. "Listeria monocytogenes activated p38 MAPK and induced IL-8 secretion in a nucleotide-binding oligomerization domain 1-dependent manner in endothelial cells." *The Journal of Immunology* 176.1 (2006): 484-490.
43. Regueiro, Verónica et al. "Klebsiella pneumoniae subverts the activation of inflammatory responses in a NOD1-dependent manner." *Cellular microbiology* 13.1 (2011): 135-153.

44. Schroder, Kate, and Jurg Tschopp. "The inflammasomes." *Cell* 140.6 (2010): 821-832.
45. LaRock, Christopher N, and Brad T Cookson. "Burning down the house: cellular actions during pyroptosis." *PLoS pathogens* 9.12 (2013): e1003793.
46. Ulevitch, RJ, and PS Tobias. "Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin." *Annual review of immunology* 13.1 (1995): 437-457.
47. LeVine, Ann Marie et al. "Surfactant protein A-deficient mice are susceptible to group B streptococcal infection." *The Journal of Immunology* 158.9 (1997): 4336-4340.
48. LeVine, Ann Marie et al. "Surfactant protein-A-deficient mice are susceptible to *Pseudomonas aeruginosa* infection." *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 19.4 (1998): 700-708.
49. LeVine, Ann Marie et al. "Distinct effects of surfactant protein A or D deficiency during bacterial infection on the lung." *The Journal of Immunology* 165.7 (2000): 3934-3940.
50. LeVine, Ann Marie et al. "Surfactant protein D enhances clearance of influenza A virus from the lung in vivo." *The Journal of Immunology* 167.10 (2001): 5868-5873.
51. Borron, Paul et al. "Surfactant-associated protein A inhibits LPS-induced cytokine and nitric oxide production in vivo." *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 278.4 (2000): L840-L847.
52. Holt, Patrick G et al. "Downregulation of the antigen presenting cell function (s) of pulmonary dendritic cells in vivo by resident alveolar macrophages." *The Journal of experimental medicine* 177.2 (1993): 397-407.
53. Junqueira-Kipnis, Ana Paula et al. "NK cells respond to pulmonary infection with *Mycobacterium tuberculosis*, but play a minimal role in protection." *The Journal of Immunology* 171.11 (2003): 6039-6045.
54. Gazit, Roi et al. "Lethal influenza infection in the absence of the natural killer cell receptor gene *Ncr1*." *Nature immunology* 7.5 (2006): 517-523.

55. Kronenberg, Mitchell. "Toward an understanding of NKT cell biology: progress and paradoxes." *Annu. Rev. Immunol.* 26 (2005): 877-900.
56. Corr, Sinead C, Cormac CGM Gahan, and Colin Hill. "M-cells: origin, morphology and role in mucosal immunity and microbial pathogenesis." *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 52.1 (2008): 2-12.
57. Tschernig, Thomas, and Reinhard Pabst. "Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) is not present in the normal adult lung but in different diseases." *Pathobiology* 68.1 (2000): 1-8.
58. Tschernig, T, WJ Kleemann, and R Pabst. "Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in the lungs of children who had died from sudden infant death syndrome and other causes." *Thorax* 50.6 (1995): 658-660.
59. Delventhal, Sabine et al. "Effects of microbial stimulation on the number, size and activity of bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) structures in the pig." *International journal of experimental pathology* 73.3 (1992): 351.
60. Moyron-Quiroz, Juan E et al. "Role of inducible bronchus associated lymphoid tissue (iBALT) in respiratory immunity." *Nature medicine* 10.9 (2004): 927-934.
61. Banfi, Andrea et al. "Development of bronchus-associated lymphoid tissue hyperplasia following lipopolysaccharide-induced lung inflammation in rats." *Experimental lung research* 35.3 (2009): 186-197.
62. Hogg, James C et al. "The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease." *New England Journal of Medicine* 350.26 (2004): 2645-2653.
63. Hancock RE, Nijnik A, Philpott DJ. Modulating immunity as a therapy for bacterial infections. *Nat Rev Microbiol.* 2012;10(4):243–254.
64. Hennessy, Elizabeth J, Andrew E Parker, and Luke AJ O'Neill. "Targeting Toll-like receptors: emerging therapeutics?." *Nature reviews Drug discovery* 9.4 (2010): 293-307.
65. Roży, Adriana, and Joanna Chorostowska-Wynimko. "Bacterial immunostimulants—mechanism of action and clinical application in respiratory diseases." *Pneumonologia i alergologia polska* 76.5 (2008): 353-359.

66. Ruah, Samuel Bentes et al. "Efficacy of a polyvalent bacterial lysate in children with recurrent respiratory tract infections." *Advances in therapy* 18.4 (2001): 151-162.
67. Morandi, Barbara et al. "A mixture of bacterial mechanical lysates is more efficient than single strain lysate and of bacterial-derived soluble products for the induction of an activating phenotype in human dendritic cells." *Immunology letters* 138.1 (2011): 86-91.
68. Evans, Scott E et al. "Stimulated innate resistance of lung epithelium protects mice broadly against bacteria and fungi." *American journal of respiratory cell and molecular biology* 42.1 (2010): 40-50.
69. Munoz, Natalia et al. "Mucosal administration of flagellin protects mice from *Streptococcus pneumoniae* lung infection." *Infection and immunity* 78.10 (2010): 4226-4233.
70. Yu, Fu-shin et al. "Flagellin stimulates protective lung mucosal immunity: role of cathelicidin-related antimicrobial peptide." *The Journal of Immunology* 185.2 (2010): 1142-1149.
71. Bahr, George M. "Non-specific immunotherapy of HIV-1 infection: potential use of the synthetic immunodulator murabutide." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 51.1 (2003): 5-8.
72. Mine, YASUHIRO et al. "Immunoactive peptides, FK-156 and FK-565. I. Enhancement of host resistance to microbial infection in mice." *The Journal of antibiotics* 36.8 (1983): 1045-1050.
73. O'Reilly, T, and O Zak. "Enhancement of the effectiveness of antimicrobial therapy by muramyl peptide immunomodulators." *Clinical infectious diseases* 14.5 (1992): 1100-1109.
74. Nijnik, Anastasia et al. "Human cathelicidin peptide LL-37 modulates the effects of IFN- γ on APCs." *The Journal of Immunology* 183.9 (2009): 5788-5798.
75. Netea, Mihai G, Jessica Quintin, and Jos WM van Der Meer. "Trained immunity: a memory for innate host defense." *Cell host & microbe* 9.5 (2011): 355-361.

76. Garly, May-Lill et al. "BCG scar and positive tuberculin reaction associated with reduced child mortality in West Africa: a non-specific beneficial effect of BCG?." *Vaccine* 21.21 (2003): 2782-2790.
77. Sun, Joseph C, Joshua N Beilke, and Lewis L Lanier. "Adaptive immune features of natural killer cells." *Nature* 457.7229 (2009): 557-561.
78. Natalia Muñoz-Wolf, Analía Rial, José María Saavedra and José Alejandro Chabalgoity. Sublingual Immunotherapy as an Alternative to Induce Protection Against Acute Respiratory Infections. *Journal of Visualized Experiments*. In press
DOI: doi:10.3791/520

10. Anexos

Figura1- Extraído de Holt et. al. Regulation of immunological homeostasis in the respiratory tract. Nature. 2008

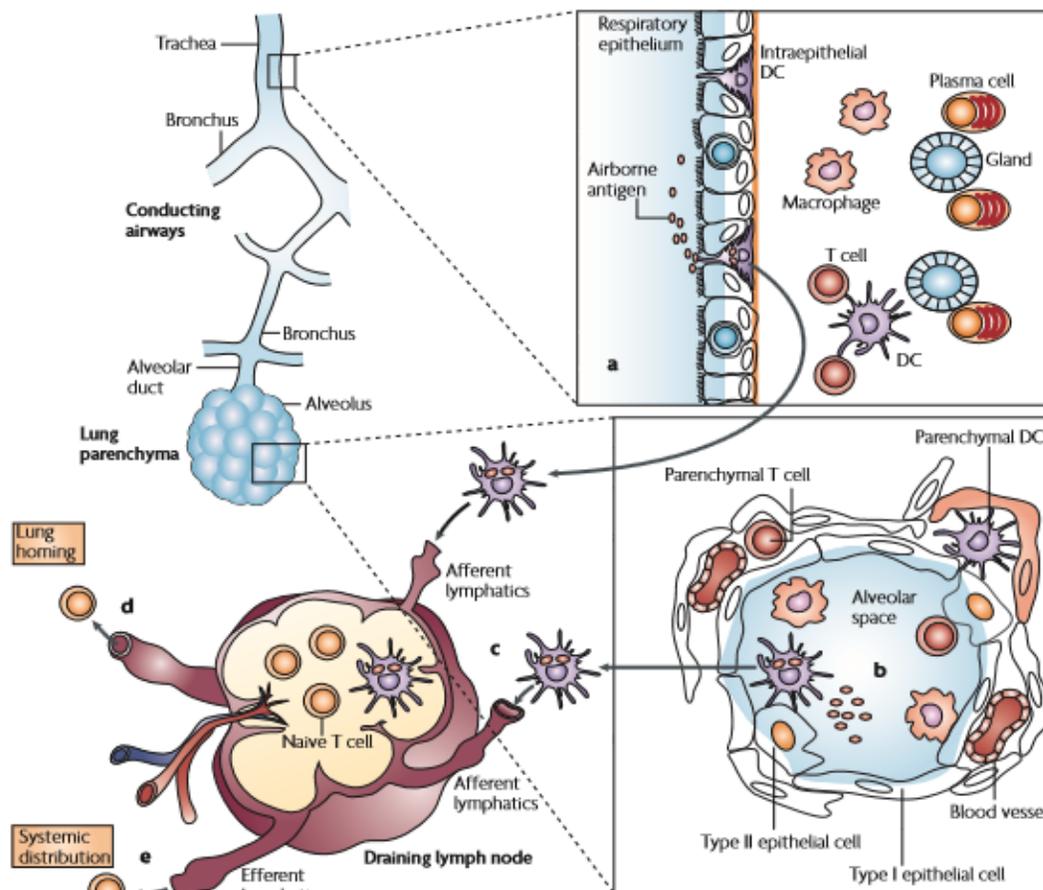
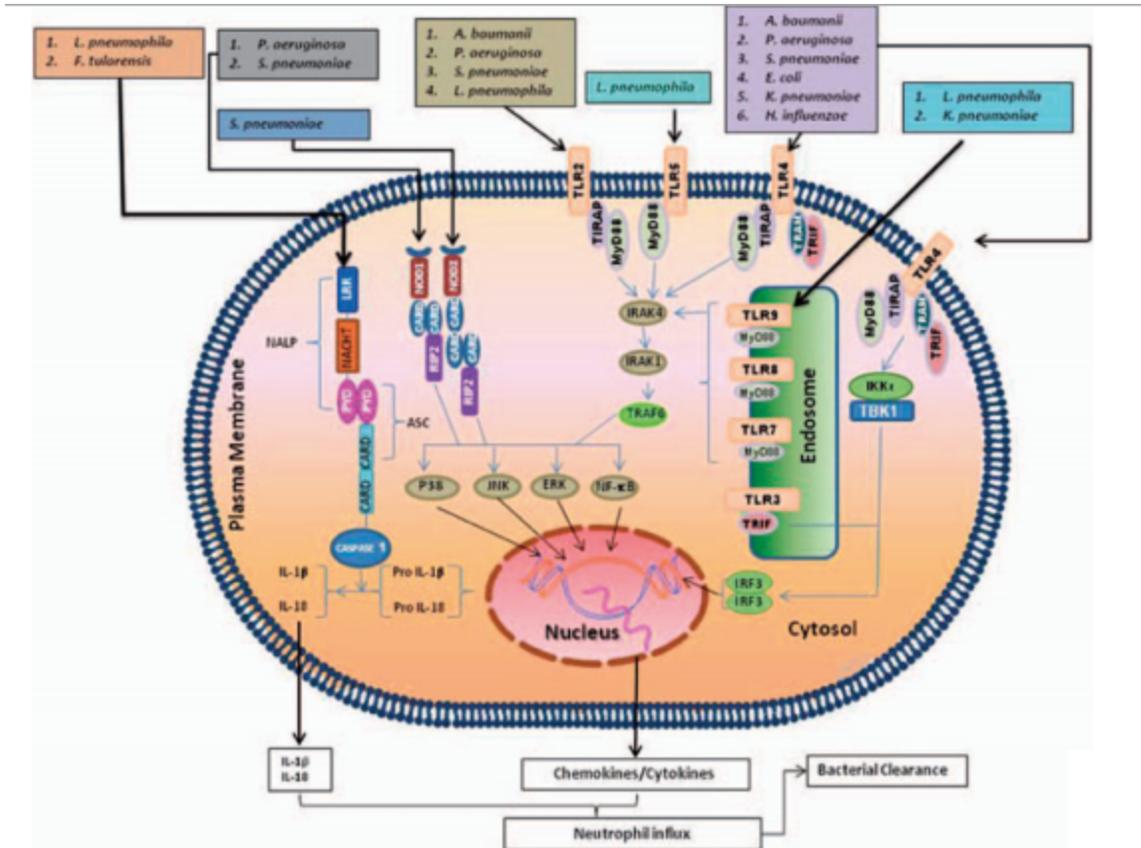


Figure 1 | Antigen uptake and migratory patterns for immune induction in the lungs. Local immune cells in the two lung compartments showing capture of airborne antigens and subsequent recognition by T cells in the draining lymph nodes. Luminal antigens are sampled by dendritic cells (DCs) that are located within the surface epithelium of the bronchial mucosa (a) or in the alveoli (b). Antigen-bearing DCs upregulate CC-chemokine receptor 7 and migrate through the afferent lymphatics to the draining lymph nodes and present antigenic peptides to naive antigen-specific T cells (c). Activated T cells proliferate and migrate through the efferent lymphatics and into the blood via the thoracic duct. Depending on their tissue-homing receptor profile, effector T cells will exit into the bronchial mucosa through postcapillary venules in the lamina propria or through the pulmonary capillaries in the lung parenchyma (d), or disseminate from the bloodstream throughout the peripheral immune system (for example, to other mucosal sites) (e).

Figura 2- Extraído de T. Balamayooran et. al. Toll-like receptors and NOD-like receptors in pulmonary antibacterial immunity. *Innate Immun.* 2010



Respiratory pathogens are recognised by membrane bound and cytoplasmic pattern recognition receptors. Plasma membrane-bound TLRs (TLR2, TLR4 and TLR5) and endosome membrane-bound TLRs (TLR3, TLR7, TLR8 and TLR9) recognise bacterial pathogens in the lungs. TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7 and TLR9 recruit MyD88 whereas TLR2 and TLR4 recruit both TIRAP and MyD88. TLR3 and TLR4 recruit TRIF to induce downstream signalling cascades. Binding of pathogens and/or PAMPs to TLRs leads to complex signalling cascades, which result in transcription of pro-inflammatory mediators and activation of MAP kinases. Cytosolic NODs recognise bacterial pathogens in the lung and mediate signalling via RIP2, whereas NALPs use ASC to induce signalling cascades, which result in transcription of pro-inflammatory mediators and activation of MAP kinases. These pro-inflammatory mediators, including chemokines, recruit neutrophils to the lung in order to clear the causative organism during bacterial infection.

Tabla 1-Extraido de Holt et. al. Regulation of immunological homeostasis in the respiratory tract. Nature. 2008

First-line defence molecules produced by airway epithelial cells (AECs)		
AEC-secreted product	Action	Refs
Mucins	Host defence; bind infectious agents	85
Surfactant protein C	Maintenance of surfactant proteins; bind infectious agents	85
Surfactant protein A and surfactant protein D (collectins)	Opsonins for pathogen clearance; direct inhibition; activate other immune cellular functions	86
Complement and complement cleavage products	Promote phagocytosis; bridging of innate and adaptive immunity; resolution and repair	87
Antimicrobial peptides (defensins, cathelicidins, histatins, lysozyme, lactoferrin, SLPI, Elafin, PLUNC and BPI)	Direct antimicrobial action; effector molecules; activation of adaptive immunity	88,89

BPI, bacterial permeability-increasing protein; PLUNC, palate, lung and nasal epithelium clones; SLPI, secretory leukoprotease inhibitor.

Tabla 2- Extraído de Robert E. W. Hancock et.al. Modulating immunity as a therapy for bacterial infections. Nature Microbiology. 2012

Table 1 Immunomodulatory therapies that target pattern recognition receptors to treat microbial infections				
Drug	Target and activity	Application	Phase of development	Companies
Imiquimod ¹²¹	TLR7 agonist	Keratosis, basal cell carcinoma, HPV-associated genital warts	Clinical	Graceway Pharmaceuticals, iNova Pharmaceuticals, Mochida Pharmaceutical
MPL ^{122,123}	TLR4 agonist	Adjuvant in the Cervarix (GlaxoSmithKline) vaccine against HPV infections and associated cervical cancer	Clinical	GlaxoSmithKline
Luivac (lysate of a combination of bacterial species) ^{18,19}	Agonist for various TLRs	Recurring respiratory tract infections	Clinical	Daichi Sankyo
CADI-05 (heat-killed <i>Mycobacterium indicus pranii</i>) ¹⁵	Agonist for various TLRs	Leprosy (in combination with antimicrobial drugs) and tuberculosis	Clinical and Phase III	Cadila Pharmaceuticals
CpG-7909 (REF.16)	TLR9 agonist	Improving the efficacy of the anthrax vaccine BioThrax (Coley Pharmaceutical)	Phase II	Coley Pharmaceutical
DIMS-0150 (an oligonucleotide-based drug) ¹⁷	TLR9 agonist	Steroid-resistant ulcerative colitis	Phase III	InDex Pharmaceuticals
E-5564 (eritoran)	TLR4 antagonist	Sepsis	Phase III	Eisai Pharmaceuticals
TAK-242 (resatorvid)	TLR4 antagonist	Sepsis	Suspended in Phase III	Takeda Pharmaceutical
MF-59 (squalene and water emulsion) and MTP-PE (mifamurtide)	NOD2 agonist	HIV, influenza viruses	Phase I	Chiron/Novartis

HPV, human papillomavirus; MPL, monophosphoryl lipid A; MTP-PE, phosphatidylethanolamine-linked muramyl tripeptide; NOD2, nucleotide-binding oligomerization domain-containing 2; TLR, Toll-like receptor.

Gráfico 1- Extraído de Boletín epidemiológico agosto de 2012- Departamento de Vigilancia en Salud- División Epidemiología MSP

Gráfico N° 1.- Año 2011

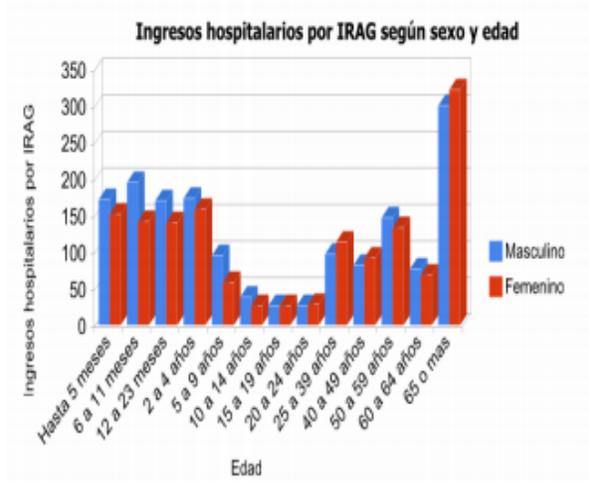


Gráfico N° 2.- Año 2012

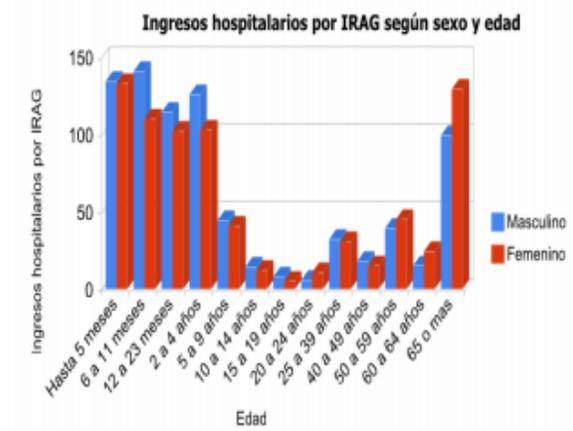
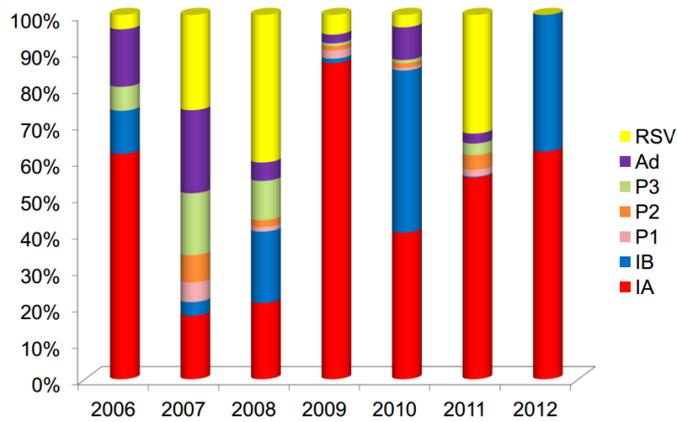


Gráfico 2- Extraído de Boletín epidemiológico agosto de 2012- Departamento de Vigilancia en Salud- División Epidemiología MSP



"RSV": Virus respiratorio sincial/ "Ad": Adenovirus/ "IA": Influenza A/ "IB": Influenza B/ "P1": Parainfluenza tipo 1/ "P2": Parainfluenza tipo 2/ "P3": Parainfluenza tipo 3

Gráfico 3- Extraído de Informe de vigilancia nacional universal de infecciones respiratorias agudas graves, 2010

Porporción de Virus Respiratorios según edad en pacientes con IRAG en Uruguay. 4/7 al 31/12/2010

