



**IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS AGENTES
REGULADORES DEL INFLAMASOMA:
POSIBILIDADES PARA EL DESARROLLO DE
FARMACOS ANTIINFLAMATORIOS.**



Facultad de Farmacia

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Lara Martín Marín



Trabajo fin de Grado.

Revisión bibliográfica.

Título: Identificación de nuevos agentes reguladores del inflammasoma: posibilidades para el desarrollo de fármacos antiinflamatorios.

Grado en Farmacia.

Nombre: Lara Martín Marín

Tutora: Virginia Motilva Sánchez

Departamento de Farmacología

Lugar de presentación: Facultad de Farmacia.

FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Sevilla, Julio de 2018.

1. RESUMEN

El contenido de esta revisión parte de un conocimiento global sobre el inflamasoma. Comenzando por los receptores de reconocimiento de patrones o PRR, que pueden tener una localización transmembranal o bien en orgánulos intracelulares. Los PRR se unen a ligandos que van a permitir que se desencadene el proceso de regulación o activación de los inflamasomas. Hay distintos tipos clasificados, según su modo de activación, en canónicos y no canónicos y también en distintas familias. El más conocido es el inflamasoma NLRP3, que se transcribe en respuesta a diversos estímulos y en su ensamblaje participa ASC y caspasa-1, activándose la última y produciéndose la liberación de IL-1 β e IL-18 que da lugar a procesos inflamatorios de muerte celular. Algunas enfermedades como la fibromialgia, las enfermedades inflamatorias intestinales y las enfermedades cardiovasculares son causadas por la activación del inflamasoma.

El conocimiento del proceso que da lugar a la activación y regulación del inflamasoma abre una ventana para reconocer posibles agentes reguladores que permitan tratar las patologías en las que interviene. Actualmente se ha conocido el mecanismo de acción de moléculas como el levornidazol (que disminuye la liberación de ROS, el creosol que reduce la expresión de NLRP3 y de proIL-1 β), el resveratrol (inhibidor de la α -tubulina desacetilasa), la melatonina (que presenta efectos inhibidores sobre NF- κ B, suprime la liberación de histonas extracelulares e impide la expresión de genes que traducen el NLRP3), partenolida y BH 11-7082 (con capacidad de alquilar restos de cisteína que inhiben la activación de NF- κ B), el aspartato y glutamato (que van a inhibir la transcripción de la proteína NLRP3 y de la pro-IL-1 β al activar los canales NMDA) y el γ -tocotrienol (que actúa inhibiendo la señalización de NF- κ B).

Palabras claves: inflamasoma (*inflammasome*), NLRP3, NLRP1, NLRC4, AIM2, IFI-16, patologías (*pathologies*).

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	3
2. ABREVIATURAS.....	5
3. INTRODUCCIÓN.....	7
4. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN.....	7
5. METODOLOGÍA.....	8
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	9
6.1 El inflammasoma y su papel regulador.....	9
6.2 PRR.....	10
6.3 Clasificación de los inflammasomas y estructura molecular.....	11
6.3.1 Inflammasomas canónicos y no canónicos.....	12
6.3.2 Familias de inflammasomas.....	13
6.3.2.1 Familia NLR.....	13
6.3.2.1.1 Inflammasoma NLRP3.....	14
6.3.2.1.2 Inflammasoma NLRP1.....	14
6.3.2.1.3 Inflammasoma NLRC4.....	15
6.3.2.2 Familia PYHIN.....	16
6.3.2.2.1 Inflammasoma AIM 2.....	16
6.3.2.2.2 Inflammasoma IFI16.....	16
6.4 Regulación y activación del inflammasoma.....	17
6.5 Patologías relacionadas con el inflammasoma.....	20
6.5.1 Fibromialgia.....	20
6.5.2 Enfermedades inflamatorias intestinales.....	20
6.5.3 Enfermedades cardiovasculares.....	22
6.5.4 Enfermedad de Parkinson.....	22
6.6 Agentes moduladores del inflammasoma.	23
6.6.1 Levornidazol.....	23
6.6.2 Vinagre de bambú.....	24
6.6.3 Resveratrol.....	24
6.6.4 Melatonina.....	25
6.6.5 Partenolida y BH 11-7082.....	27
6.6.6 Aspartato y glutamato.....	28
6.6.7 γ -Tocotrienol	29
7. CONCLUSIONES.....	29
8. BIBLIOGRAFÍA.....	31

2. ABREVIATURAS

α -Syn: α -sinucleína.

ADN bicatenario: ácido desoxirribonucleico bicatenario.

ADNmt: ácido desoxirribonucleico mitocondrial.

AIM 2: proteína ausente en melanoma.

AP1: proteína activadora 1.

APCs: células presentadoras de antígenos.

ASC: molécula adaptadora denominada.

ATP: adenosina trifosfato.

Bay 11-7082 ó BH 11-7082: Bahía 11-7082.

BIR: dominio de repetición inhibidora de baculovirus.

BMC: células mononucleares sanguíneas.

CARD: dominio de caspasa-reclutamiento.

CLR: receptores de lecitina.

DAMP: patrones moleculares asociados a peligro.

EDVD: vasodilatación dependiente del endotelio.

EII: Enfermedades inflamatorias intestinales.

FIIND: aun no encontrada función.

FM: Fibromialgia.

HSP90: proteína de choque térmico molecular chaperona 90.

IFI-16: interferón- γ inducido por la proteína IFI16.

IKK- β : inhibidor del factor nuclear kappa-B quinasa subunidad beta.

IL-18: Interluquina 18.

IL-1 β : Interleuquina 1 β .

IRF: Factores reguladores del interferón.

LPS: lipopolisacáridos.

LRR: dominio de repetición rico en leucina.

MSU: cristales de urato monosódico.

NACHT o NOD: dominio central de oligomerización de unión a nucleótidos.

NAD: nicotinamida adenina dinucleótido.

NAIP5: proteína 5 inhibidora de apoptosis de NLR.

NF- κ β : factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas.

NO: óxido nítrico.

PAMP: patrones moleculares asociadas a patógenos.

ProIL-18: pro-Interleuquina-18.

ProIL-1 β : pro-Interleuquina-1 β .

PRR: receptores de reconocimiento de patrones.

PYD: dominio de pirina.

RIG-1: receptores tipo I genéticos inducibles por ácido retinoico.

ROS y ERO: especies de oxígeno reactivo.

SGT1: proteína asociada a la ubiquitina ligasa.

TLR: receptores Toll-loke.

TNF- α : factor de necrosis tumoral.

TRAF6: factor 6 asociado al receptor de TNF.

ZO-1: zonula occludens.

3. INTRODUCCIÓN

Con el paso de los años, se han determinado patologías que afectan al ser humano, relacionadas con una desregulación en procesos inmunológicos que desencadenan la muerte celular programada como ocurre en la diabetes mellitus tipo II, aterosclerosis y otros procesos cardiovasculares, en enfermedades inflamatorias intestinales, en enfermedades reumáticas, la gota o patologías que afectan al sistema nervioso como el Alzheimer y el Parkinson.

Es necesario encontrar moléculas activas que puedan ser usadas como fármacos. Tienen que ser dirigidas a una diana terapéutica para evitar el proceso inflamatorio que tiene lugar en este tipo de enfermedades.

Los inflamomas son grandes complejos multiproteicos citosólicos que se transcriben y ensamblan en respuesta a un estímulo y que van a activar a la caspasa-1 que va a hacer posible la liberación de componentes inflamatorios tales como IL-1 β e IL-18 provocando la piroptosis celular. El papel del inflamoma ha sido conocido en una gran variedad de patologías y por ello es candidato a ser tratado como una diana farmacológica, especialmente el inflamoma NLRP3, que es el más estudiado ya que se ha visto su intervención en mayor cantidad de procesos patológicos.

Aunque aún no se puede hablar de fármacos como tal que actúen sobre ésta plataforma proteica, pero sí se ha visto la posible acción de agentes moduladores tanto en ensayo *in vitro* como *in vivo* que intervienen en los procesos de regulación y activación en distintos niveles, actuando como inhibidores. Algunos de ellos son la melatonina que va a actuar en distintos niveles del proceso de regulación en relación a la patología afectada, el resveratrol que inhibe el inflamoma vía inactivación de la sirtuina 2, partenolida mediante una alquilación produciría la inhibición de la actividad del inflamoma y posiblemente se irán descubriendo cada vez más agente moduladores que sean efectivos como agentes antiinflamatorios.

4. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN

Al llevar a cabo la elaboración de ésta revisión bibliográfica nos hemos propuesto dos objetivos. El primer objetivo se ha orientado a la recopilación de la información más

actual y también necesaria procedente del ámbito científico, que nos permita conocer el papel del inflamasoma, la estructura molecular que lo conforma, así como su mecanismo de regulación y activación. Todo ello orientado a alcanzar el segundo objetivo principal de identificar agentes moduladores y potenciales fármacos que intervengan en el proceso de regulación y activación del inflamasoma; esto lo puede realizar inhibiendo su acción ya sea antes, durante o en el post-ensamblaje del mismo, o evitando la sucesión de procesos moleculares que desencadenan la liberación de moléculas inflamatorias como IL-1 β e IL-18 que daría lugar a la piroptosis (muerte celular programada debida a la intervención muy activa de componentes de la inflamación).

5. METODOLOGÍA

El método de búsqueda de la presente revisión bibliográfica se ha realizado partiendo de una lectura inicial que ha permitido la puesta al día del tema a tratar en el panorama actual. Seguido de la determinación de la estructura y partes que se han creído pertinentes para su conformación. Una vez establecida esta ordenación, se ha procedido a la búsqueda exhaustiva de cada punto bajo una actitud crítica usando el buscador PubMed que ha permitido acceder a la base de datos Medline. Se han empleado palabras claves como inflamasoma (*inflammasome*), NLRP3, NLRP1, NLRC4, agentes moduladores del inflamasoma (*inflammasome modulating agents*), patologías (*pathologies*), AIM2, IFI-16.

En determinadas ocasiones durante la búsqueda de información para un determinado punto, esta se ha encontrado rodeada de otra información que hemos considerado relevante para completar datos. Por lo que siempre el trabajo se ha llevado a cabo desde una visión global del tema.

En la búsqueda de la revisión hemos usado filtros, acotando la búsqueda a artículos posteriores a 2010, si bien esto no significa que toda la información provenga de publicaciones comprendidas en ese periodo. Es debido a que en artículos consultados han aparecido referencias de otros artículos específicos en la materia y han servido como otra fuente de información adicional.

En segundo lugar, en lo que a agentes moduladores del inflamasoma se refiere, la búsqueda se ha acotado en ocasiones a “ensayo clínico” (*clinical trial*), permitiendo el acceso a información procedente directamente de la fuente experimental.

Los artículos que hemos utilizado para la revisión bibliográfica, proceden de revistas de alto interés en la comunidad científica, siendo algunas de ellas: PLoS One, Biochemical pharmacology, Proteins o Nature.

6. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 El inflamasoma y su papel regulador.

Los vertebrados, incluidos los humanos, tienen como forma de defensa el sistema inmune; este está compuesto por el sistema inmune innato y el sistema inmune adaptativo (Fig. 1).

El sistema inmune innato está preparado con anterioridad para actuar de forma inmediata frente a una amenaza, pero no específicamente. A la vez que este actúa, las células dendríticas y otras células presentadoras de antígeno (APCs) llevan la información a los linfocitos B y T del sistema inmune adaptativo. Los linfocitos, tienen distintos receptores, que al reordenarse el gen del receptor antigénico, permite al sistema inmune adaptativo el reconocimiento de antígenos, actuando frente a ellos específicamente.

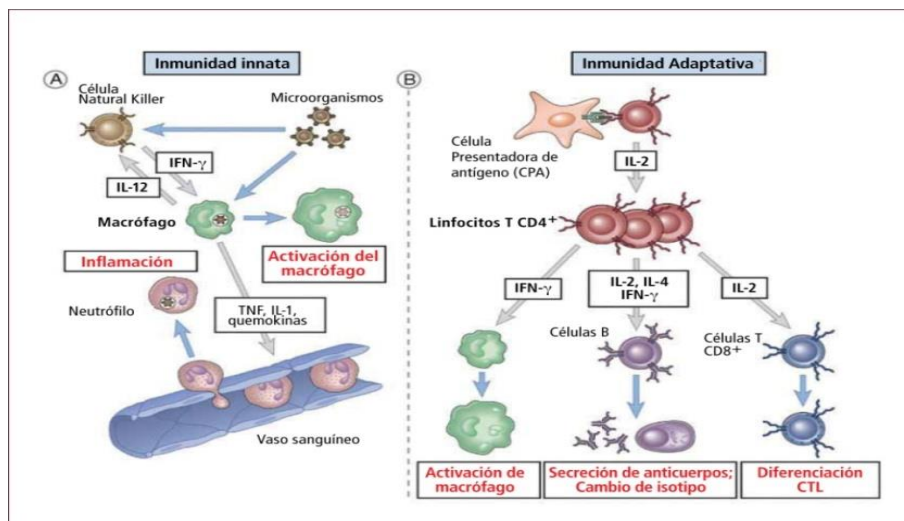


Figura1. Vías de activación y señalización del sistema inmune innato y adaptativo que desencadenan la liberación de citoquinas. (Tomado de *Toche, 2012*).

En la inmunidad innata, es necesaria la activación de los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) para desencadenar el proceso de defensa. Los PRR se activan al detectar estructuras microbianas únicas denominadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). Los ácidos nucleicos microbianos, los sistemas de secreción bacterianos y los componentes de la pared celular microbiana son ejemplos de los factores microbianos conservados que son detectados por los PRR. Las células huésped dañadas también pueden desencadenar la activación de los PRR al liberar patrones moleculares asociados al peligro (DAMP) (Lamkanfi y Dixit, 2014).

Al ser encontrados los PAMP y DAMP por los receptores de reconocimiento de patrones (PRR), se desencadenan cascadas de señalización en las que intervienen el factor nuclear- κ B (NF- κ B), factores reguladores del interferón (IRF) y la proteína activadora 1 (AP1) que dan lugar a la transcripción de genes con codificación de citoquinas, interferones y proteínas proinflamatorias o microbicidas. Las proteínas NLR y ALR van a hacer que se desencadenen distintos mecanismos de defensa y entre ellos el ensamblaje del inflamasoma.

Una vez completa esta plataforma proteica, se va a inducir la activación de procaspasa-1 o procaspasa-11, precursoras de caspasa-1 y caspasa-11 respectivamente. Estas dos últimas van a producir la liberación de proIL-1 β y proIL-18, precursoras de IL-1 β e IL-18. El final es un proceso de piroptosis celular.

6.2 PRR

Se han diferenciado tres clases de receptores de reconocimiento de patrones (Fig.3) sólo dos de ellos presentan importancia en el tema tratado. Se van a clasificar dependiendo de la localización celular.

Las proteínas transmembrana que se localizan en la membrana plasmática y en los endosomas. En este sitio pueden reconocer los PAMP Y DAMP al encontrarse en el exterior celular. Dentro de estos se reconocen:

- TLR, siglas que corresponden a Toll-like. Estos receptores generan la respuesta inicial inflamatoria contra el patógeno, debido a que conduce a la maduración de las células presentadoras de antígeno y a la producción de citoquinas

inflamatorias (Reynolds et al., 2012) ligandos de los diferentes TLRs se incluyen el ácido desoxirribonucleico (ADN) mitocondrial (TLR-9), las histonas (TLR-4), los fragmentos de hialuronato (TLR-2 y 4) y las proteínas del shock térmico (TLR-2 y 4) (Campanholle et al., 2012).

- CLR, los receptores de lecitina. Que además de ser transmembrana son intracelulares.

Por otra parte, en los compartimentos intracelulares se encuentran:

- El receptor de tipo RIG-I (RLR), pertenecen a la familia de ARN helicasas, que detectan especies de ARN (ácido ribonucleico) provenientes de virus en el citoplasma y coordinan la inducción de programas anti virales mediante la inducción de la vía Interferón I (Colli et al., 2013).
- El receptor AIM2 (ALR).
- NLR formada por receptores NOD, es un dominio de unión a proteínas y nucleótidos que contienen repeticiones que son ricas en leucina.
- Proteínas que al detectar ADN citosólico dan lugar a la producción de interferón tipo I.

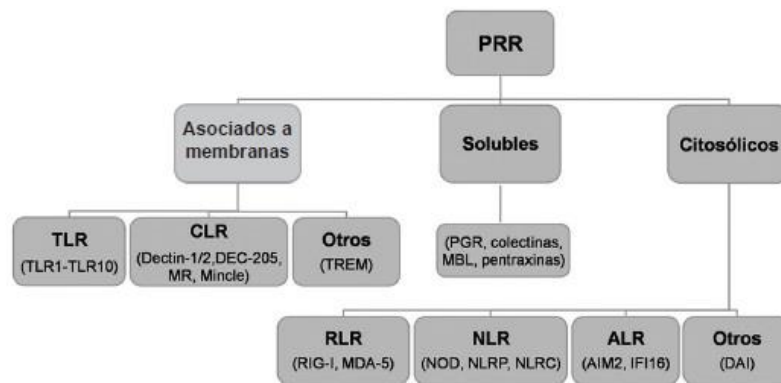


Figura 2. Clasificación de los receptores de reconocimiento de patrones. (Tomado de *Phanam, 2006*).

6.3 Clasificación de los inflamomas y estructuras moleculares.

Tomando como base parte de lo realizado en la revisión bibliográfica realizada por Carlos Pérez de la Facultad de Farmacia de la US en su trabajo de fin de grado (curso 2016-2017), se han considerado diferentes criterios para la clasificación de los inflamomas que se describen a continuación.

6.3.1 Inflamasomas canónicos y no canónicos

Una primera clasificación de los inflamasomas los diferencia en canónicos y no canónicos. Esta se basa en los distintos modos de activación de la caspasa-1.

Los inflamasomas canónicos (Fig. 3) por medio de DAMPs y PAMPs, permiten la activación de la caspasa-1, siendo sensibles a varios ligandos, tales como ADN bicatenario tanto vírico como bacteriano de bacterias Gram positivas como ejemplo.

Sin embargo, en los inflamasomas no canónicos (Fig. 3), es necesaria la intervención de la caspasa-11 para que se dé la activación de la caspasa-1, por tanto previamente tiene que darse la activación de la caspasa-11. Algunos ligandos que dan lugar a la activación de esta son bacterias Gram negativas como es el caso de *Escherichia coli* y toxina del cólera B (CTB) (Diamon et al., 2015); se desencadena la muerte celular por piroptosis y se libera además moléculas endógenas que se conocen como moléculas alarma.

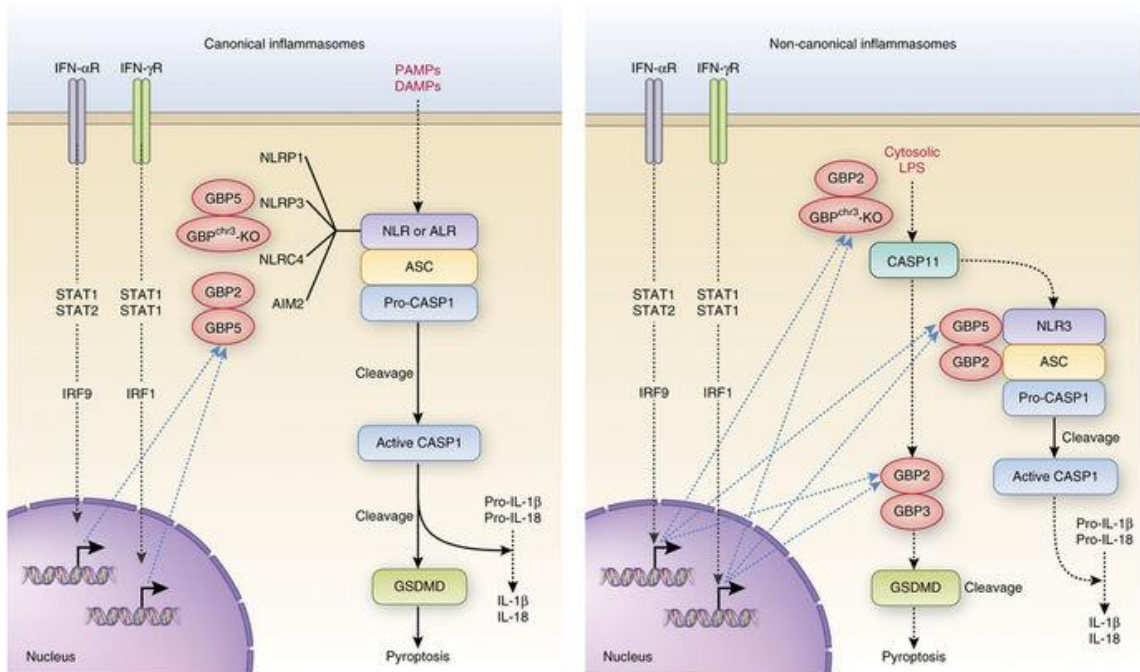


Figura 3. Vías de señalización en la activación de inflamasomas. En los canónicos, no es necesaria la intervención de caspasa-11 para su activación, sin embargo sí lo es en los no canónicos. (Tomado de Kim et al., 2016)

6.3.2 Familia de inflamasomas.

La segunda clasificación de los inflamasomas los divide en la familia de los NLRs (proteínas que contienen un dominio de oligomerización de nucleótidos, ricas en leucina) y PYHIN (familia de proteínas que contienen dominio pirina y dominio HIN).

6.3.2.1 Familia NLRs

Son una familia de proteínas codificadas en el genoma. Los miembros de NLR se clasifican en base a su homología estructural compartida de tres dominios. El dominio efector N-terminal puede incluir un dominio de pirina (PYD), un dominio de caspasa-reclutamiento (CARD), o un dominio de repetición inhibidora de bacilovirus (BIR), y es la base por la cual los NLR pueden subcategorizarse adicionalmente. El dominio central de oligomerización de unión a nucleótidos (NACHT) es una característica común de todas las proteínas NLR, seguido de un dominio de repetición rico en leucina (LRR) en el extremo C-terminal (Sutterwala et al., 2014).

Los inflamasomas más conocidas dentro de esta familia reciben los nombres de NLRP1, la NLRP3, la NLRP6, la NLRP12, la NLRP2, la NLRC4.

Se caracterizan por donde pueden aparecer, NLRP1, NLRP3 y NLRC4 se encuentran en la mayoría de los tejidos, fundamentalmente en el citosol. Mientras que el NLRP2 aparece en el citosol neuronal y también en las microglías del sistema nervioso central.

El NLRP6, puede encontrarse en los riñones, hígado e intestino delgado al ser expresado.

Sin embargo, la proteína NLRP12 se expresa en las células mieloides.

Pueden categorizarse dos subfamilias dentro de los NLR, aquellos que contienen un dominio de pirina (PYD), los NLRP, siendo los más conocidos el NLRP1 y NLRP3. Presentan en el extremo C-terminal un dominio rico en repeticiones de leucina (LRR), que mantiene inactivado al NRL, y también implicado en el reconocimiento del ligando, además en este extremo aparece un dominio central de unión a nucleótidos NATCH (NOD).

En el dominio N-terminal aparece el resto de piridina (PYD), que caracteriza a esta subfamilia de inflamasonas.

Por otra parte, esta familia se completa con la subfamilia NLRC, cuyo principal componente es el inflamasona NLRC4, que posteriormente será detallado.

6.3.2.1.1 Inflamasona NLRP3

El inflamasona NLRP3 es el que gana más atención en el campo de la investigación debido a su implicación en patologías de alta incidencia.

Se reconoció por primera vez cuando las mutaciones de ganancia de función dentro de NLRP3 fueron responsables del síndrome de Muckle-Wells, síndrome familiar autoinflamatorio por frío y enfermedad inflamatoria multisistémica de inicio neonatal (Hoffman et al., 2001).

La proteína NLRP3 (Fig. 4), está formada por un dominio C-terminal formado por LRR (repetición rica en leucina), un dominio central denominado NATCH de unión y oligomerización de nucleótidos, y se caracteriza por su región N-terminal con un dominio PYD, ya que permite reclutar a la molécula adaptadora denominada ASC, por una interacción PYD-PYD. ASC, proteína asociada a apoptosis, presenta un dominio CARD que permite el reclutamiento de la procaspasa-1, facilitando el ensamblaje y por tanto la formación del inflamasona NLRP3.

La activación de éste inflamasona según recientes avances es llevada a cabo mediante dos pasos diferentes dependiendo de la presencia o ausencia de ligandos para PRR que se verán en este trabajo en siguientes apartados.

6.3.2.1.2 Inflamasona NLRP1

El inflamasona NLRP1 responde a desafíos microbianos como la infección por *Bacillus anthracis* y está implicado en enfermedades autoinmunes como el vitíligo (Jin et al., 2013) y otras enfermedad relacionadas con el polimorfismo del inflamasona NLR1 son la enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, melanoma y esclerosis sistémica.

En inflammasoma NLRP1, en investigación es comparado con el de ratón denominado NLRP1b (Fig. 4), así como con el de rata. El NLRP1 humano, va a presentar un extremo N-terminal, con un dominio PYD, siendo el único de ésta familia. En el extremo C-terminal, presenta un dominio CARD. En orden, posterior al extremo C-terminal, aparece el dominio FIIND, dominio con función aún por encontrar, posterior a éste, aparece el dominio LRR, seguido de NATCH y unido éste al extremo N-terminal.

En NLRP1, capta mayor protagonismo el dominio CARD, ya que se asocia al reclutamiento de procaspasa-1, siendo imprescindible el adaptador ASC.

El estudio de NLRP1b descrito en ratones, puede explicar la posible función de FIIND, que se autoasocia con NATCH. El dominio FIIND, en la proteína NLRP1 sufre una proteólisis que permite que el inflammasoma se ensamble como tal al recibir señales producidas por PAMPs.

6.3.2.1.3 Inflammasoma NLRC4

Proteína que hace las veces de receptor, caracterizada por presentar en su extremo N-terminal un dominio CARD, seguida del dominio NATCH y en su extremo C-terminal presenta un dominio LRR.

El ensamblaje del inflammasoma NLRC4 (Fig. 4) a partir de la proteína se produce por la unión a procaspasa por el dominio CARD. Se ha demostrado que este inflammasoma activa la caspasa-1, en respuesta a un dominio conservado en la proteína bacteriana flagelina, así como al componente conservado tipo varilla del sistema de secreción tipo III denominado en Salmonella entérica Serotipo Typhimurium. NAIP5 también se requiere para la activación de NLRC4 por el péptido de flagelina C-terminal mínimo, que es suficiente para activar NLRC4. Sin embargo, la activación de NLRC4 no siempre depende de NAIP5 (Lightfield et al., 2011).

6.3.2.2 Familia PYHIN

Tanto AIM2 como IFI16 contienen un dominio HIN de unión a ADN C-terminal y un dominio de pirina N-terminal (PYD) que pertenece a la superfamilia de dominios de muerte de los módulos de señalización y, por lo tanto, fueron renombrados como la familia de receptores PYHIN (Hornung et al., 2009).

6.3.2.2.1 Inflamasoma AIM2

El inflamasoma AIM2 (Fig.4) se expresa en células mieloides, concretamente en macrófagos. Va a activarse en respuesta al receptor ALR, al encontrar en el citoplasma celular de macrófagos, ADN de doble cadena, perteneciente a determinados virus y bacterias, incluyendo *Francisella tularensis* (Jones et al., 2010) *Listeria monocytogenes* (Kim et al., 2010) *Streptococcus pneumoniae* (Fang et al., 2014), así como algunas clases de micobacterias y virus.

El inflamasoma, está constituido por un dominio o dos HIN-200 en el extremo N-terminal, mientras que en el extremo C-terminal aparece un dominio PYD. El dominio PYD es el encargado de reclutar a ASC, por unión PYD-PYD por interacción homotópica, ello da lugar a la regulación del factor nuclear kappa B (NF- κ B), mientras que el dominio HIN-200 se une al ADN bicatenario al poseer carga positiva, dando lugar a la activación de la caspasa-1.

6.3.2.2.2 Inflamasoma IFI-16

La proteína IFI-16 (Fig.4) asociada al núcleo ha emergido recientemente como un sensor de ADN innato que regula las citocinas inflamatorias y la producción de interferón tipo I. IFI16 reconoce los genomas del herpesvirus en el núcleo, dando como resultado la formación del complejo inflamasoma IFI16-ASC-Caspasa-1 y la producción de IL-1 β (Ansari et al., 2015). Una vez unido a ASC, se transloca fuera del núcleo y se produce el ensamblaje.

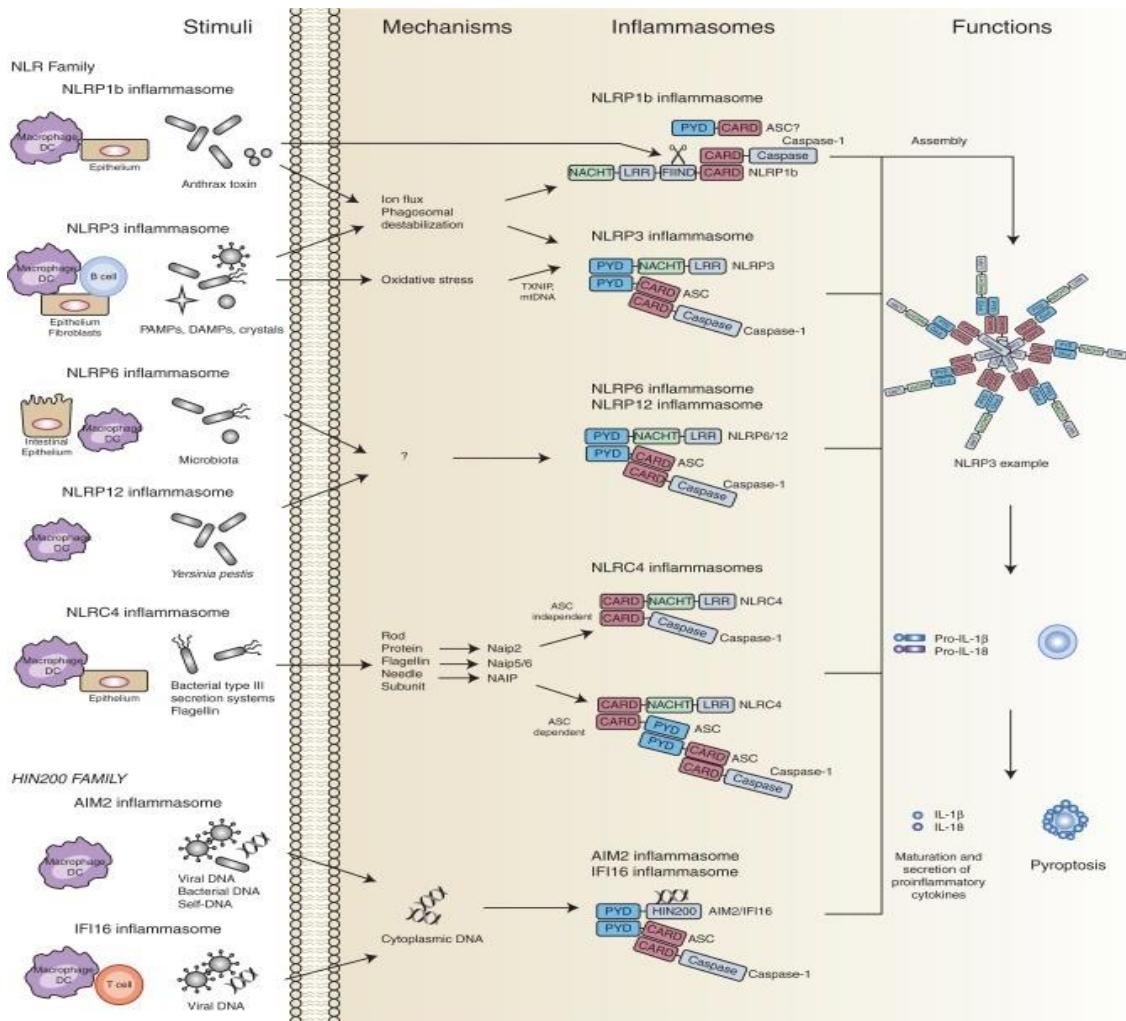


Figura 4. Estructura molecular de los distintos inflammasomas y sus ensamblajes, desencadenado por los DAMPs y PAMPs correspondientes. Formación de la plataforma proteica y liberación de células inflamatorias. (Tomado de *de Zoete et al., 2014*).

6.4 Regulación y activación del inflammasoma.

El inflammasoma es una plataforma proteica citosólica que se ensambla en respuesta a estímulos tanto endógenos como exógenos. Estos estímulos aparecen a causa de DAMPs y PAMPs respectivamente. Incluyen la salida de potasio, exceso de ATP o especies de oxígeno reactivo (ROS), estrés mitocondrial, estrés del retículo endoplásmico (Fang, 2013) o edema celular (Compan et al., 2012). Los cristales de urato, fosfato de calcio, fibrillas de amiloide, sílice o asbesto también son desencadenantes adicionales de la vía inflammasoma (Chang et al., 2014). Dentro de los PAMPs, los más típicos son bacterias y virus, de los cuales los PRR, detectan partes como pueden ser los lipopolisacáridos pertenecientes a la pared celular. También, un factor desencadenante, proviene de los

fagocitos, que ingieren proteínas agregadas, así como material cristalizado, tanto del propio organismo como del exterior. Al no ser procesados correctamente, dan lugar a la desestabilización del complejo lisosomal y posterior lisis, seguido de la liberación de la proteasa lisosomal, denominada catepsina B, que da lugar a la activación del NLRP3.

Teniendo en cuenta el trabajo realizado por Sutterwala et al., vamos a dividir en dos señales las llevadas a cabo para la regulación del proceso de señalización y activación del inflammasoma NLRP3 (Fig. 5). En base a ello cualquier estímulo capaz de producir una sensibilización de los PRR, va a desencadenar la activación del factor de transcripción (NF- κ B), siendo crucial para la transcripción de NLRP3 y de pro-IL-1 β , ya que ambos se encuentran en cantidad insuficiente en el citosol. Sin embargo, no es necesaria la transcripción de ASC, de procaspasa-1 ni de pro-IL-18 ya que se encuentran en concentraciones adecuadas en el citoplasma. Cuanto mayor es la disponibilidad de NLRP3 y pro-IL-1 β más favorecida está la activación y mas potenciada la cinética, pero varía dependiendo del tipo de célula, en los macrófagos el umbral de activación es mayor que en células dendríticas.

Una vez se produce la traducción de la proteína NLRP3, se encuentra en estado ubiquitinizado, estado en el que está impedida la oligomerización del inflammasoma y se encuentra inactivado. A causa de las señales de sensibilización adecuadas, por acción de la desubiquitinasa se produce la desubiquitinización del dominio LRR. Al igual es necesario que ocurra en ASC, tanto para NLRP3 como en AIM2.

Es importante destacar la existencia de dos proteínas, la proteína de choque térmico molecular chaperona 90 (HSP90) y la proteína SGT1 asociada a la ubiquitina ligasa, se unen entre ellas y también a la proteína NLRP3 ya madura, haciendo que esta última esté receptiva de una señal pero aún inactiva.

En este punto, hay que tener en cuenta procesos llevados a cabo pertenecientes a la segunda señal que van a dirigir a la activación del inflammasoma, una de ellas es desencadenada por el ADNmt y la cardiolipina presente en la membrana mitocondrial, también por ERO en abundancia procedentes principalmente de la mitocondria, la disminución de la concentración de potasio intracelular a causa de su salida por la formación de poros membranales y la disminución de la generación de ATP y posiblemente la disminución de NAD a causa de la entrada de calcio por canales voltaje dependientes a través de la membrana mitocondrial.

Las señales que acabamos de comentar darán lugar al ensamblaje del inflamasoma, en este caso como se trata del NLRP3, en primer lugar como se dijo antes, se une ASC a NLRP3 mediante interacción PYD-PYD, una vez unidas, mediante el dominio CARD de ASC se va a reclutar a la procaspasa-1, potenciada la unión por la liberación de cathepsina B. Gracias a ella, mediante un proceso de autoproteólisis, la procaspasa-1 pasa a caspasa-1. Una vez se activa la caspasa-1, dará lugar a la liberación de las interleuquinas, en este caso IL-1 β y la IL-18, que darán comienzo al proceso inflamatorio.

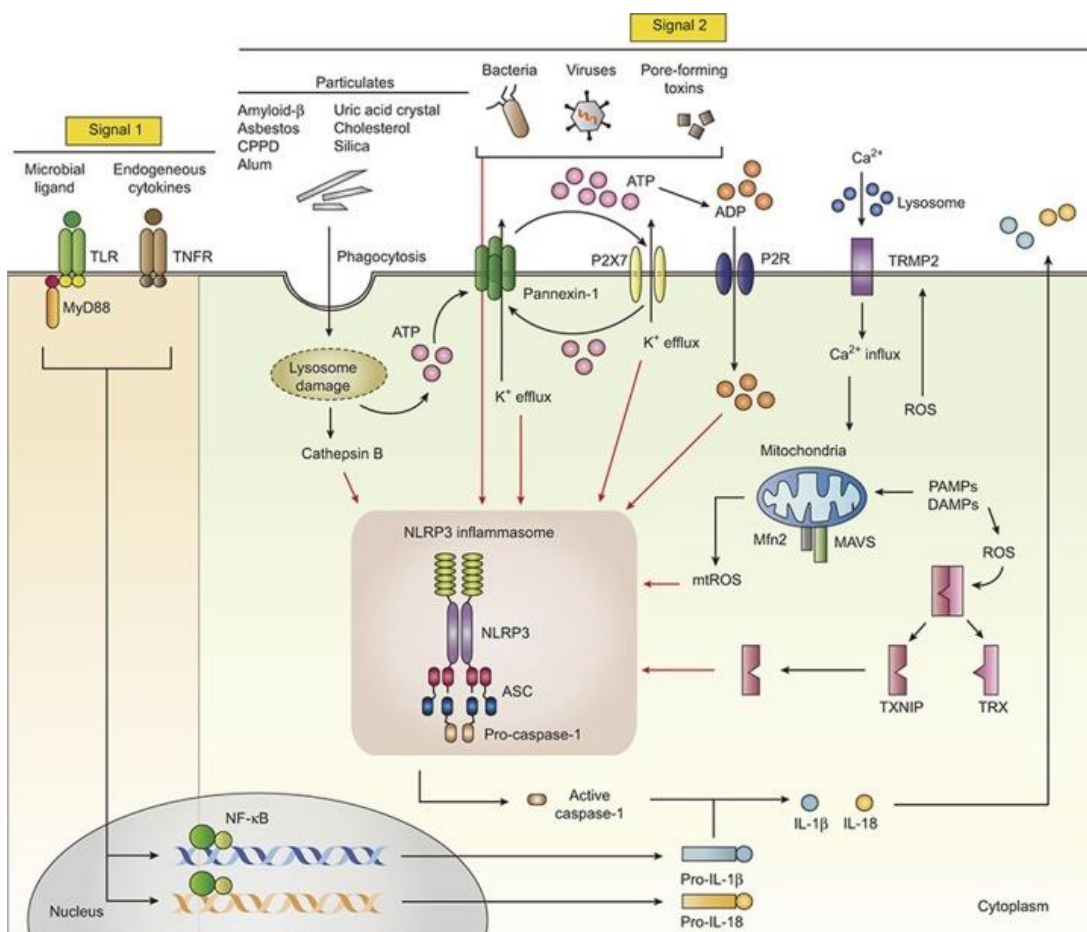


Figura 5. Proceso de regulación y activación del inflamasoma NLRP3, comprendido por la señal 1 que motivada por la unión de los ligandos se transcribe la información genética de la preproteína NLRP3 y pro-IL. Es en lo indicado en la señal dos cuando se produce la activación del inflamasoma. El proceso finaliza con la liberación de IL-1 β así como IL-18. (Tomado de Jo et al., 2016)

6.5 Patologías relacionadas con el inflamasoma.

6.5.1 Fibromialgia

La fibromialgia es una condición de dolor crónico presente en el 2-4% de la población. Consiste en un dolor generalizado con similitudes con el dolor neuropático en los hallazgos clínicos, la fisiopatología y la neurofarmacología. El dolor es el síntoma predominante y la alodinia y la hiperalgesia son signos comunes. La fatiga extrema, la cognición deteriorada y las dificultades para dormir no restaurativas coexisten además de otros síntomas somáticos (Sumpton y Moulin, 2014).

Hay ensayos clínicos que determinan parámetros asociados a esta patología, como los BMC (células mononucleares sanguíneas) de pacientes con FM que mostraron una regulación negativa significativa de varios genes relacionados con la biogénesis mitocondrial. Paralelamente, BMC mostro una reducción de los niveles de expresión proteica del complejo mitocondrial (complejo I, complejo III y citocromo c) acompañado de actividades reducidas del complejo de la cadena mitocondrial entre 50% -60% de pacientes en comparación con los pacientes control (Cordero et al., 2014).

Es sabido, que una disfunción en la cadena mitocondrial se asocia con un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno, que como vimos antes, es una de las señales que dan lugar a la activación del inflamasoma NLRP3 y por consiguiente se da la activación de la caspasa-1, que desencadena con la liberación de IL-1 β e IL-18, las cuales llevarán a procesos inflamatorios.

En el ensayo clínico llevado a cabo por Cordero et al., se asocia la administración oral de la coenzima Q10 con una disminución de los niveles de activación de inflamasoma, ya que la coenzima Q10 es importante en la cadena transportadora de electrones mitocondrial. Al actuar como transportador de electrones entre complejos, reduciendo así la formación de radicales libres que pudieran inducir a la activación de NLRP3.

6.5.2 Enfermedades inflamatorias intestinales

Las enfermedades inflamatorias intestinales actualmente incluyen a la colitis ulcerosa y a la enfermedad de Crohn. La principal diferencia entre ambas, es que en la primera las

úlceras intestinales aparecen localizadas en una misma región, mientras que en la segunda las lesiones aparecen de forma diseminada. Ambas son causadas por una respuesta inmune alterada a la microbiota intestinal.

Son necesarias dos señales para la activación del inflamasoma, la primera en enfermedades autoinmunes asociadas a la mucosa intestinal, viene dada por la propia microbiota que no es reconocida como normal. Por ello se produce una primera señal mediada por ligandos generalmente de tipo TLR, que da lugar a la transcripción de NLRP3 y de pro-IL-1 β que en etapas posteriores por acción de la caspasa-1 pasará a IL-1 β . Los estudios clínicos muestran niveles aumentados de IL-1 β en los tejidos inflamados de la mucosa de pacientes con EII (Zhang et al., 2014).

Pero en este tipo de patologías no sólo el inflamasoma NLRP3 es causante de esta inflamación, sino que NLRP6 y NLRC4 también pueden ensamblarse y ser partícipes del daño causado.

6.5.3 Enfermedades cardiovasculares

Algunos estudios, han demostrado la implicación del proceso inflamatorio desencadenado por la activación del inflamasoma NLRP3 de forma canónica, con patologías cardiovasculares tales como aterosclerosis, hipertensión o arteritis, demencia vascular e isquemia o remodelación del miocardio. Pero posterior a esto, se ha visto que una activación no canónica del inflamasoma podría causar alteraciones vasculares por un mecanismo alternativo.

Se ha demostrado que diferentes factores aterogénicos, como hipercolesterolemia, hiperhomocisteinemia o citoquinas, incluyendo factores de muerte o adipocinas, activan el inflamasoma NLRP3, incrementando la actividad de caspasa-1 y la producción de IL-1 β en células endoteliales cultivadas o la capa endotelial de la pared arterial. Esto indica la activación del inflamasoma, que reduce la biodisponibilidad del óxido nítrico (NO), lo que lleva a la vasodilatación dependiente del endotelio (EDVD). Además, se descubrió que la activación del inflamasoma NLRP3 disminuye el nivel de proteína de unión tal como ZO-1 en células endoteliales, aumentando la permeabilidad endotelial. Estos efectos de la activación de inflamasomas se deben a un efecto directo sobre las células endoteliales (Li, 2015). Es debido a que no sólo en las células inmunitarias

aparecen los PRR, también están presentes en los miocitos cardíacos del sistema cardiovascular, las células endoteliales y las células del músculo liso vascular. Aunque en realidad es un sistema de defensa, que hace en caso de peligro que se dé el reclutamiento de las células inflamatorias, pero a veces la respuesta es exagerada y se producen daños.

La activación de inflamasoma va a hacer que se produzca la diferenciación de miofibroblastos y que se produzca la síntesis de colágeno, produciéndose una fibrotización del tejido, provocando una fibrosis intersticial. Por otro lado, la activación de inflamasoma en cardiomiocitos produce la liberación de IL-1 β no madura, provocando la disminución de la función contráctil y provocando la apoptosis de miocitos.

6.5.4 Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) se caracteriza por la acumulación de α -sinucleína (α -Syn), la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra compacta y la inflamación (Zhang et al., 2017).

Las microglías son las principales células inmunes innatas dentro del SNC, pero se complementan con macrófagos derivados del SNC que se localizan en las meninges, el plexo coroideo y el espacio perivascular (Prinz et al., 2011). La α -sinucleína activa la microglía originando neuroinflamación.

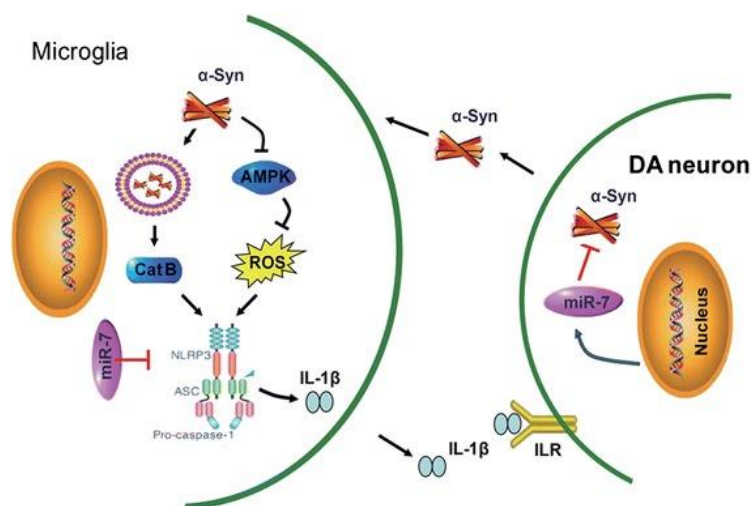


Figura 6. Proceso de activación del inflamasoma NLRP3 en la microglía a causa de la acumulación de α -sinucleína y represión por miR-7. (Tomado de Zhou et al., 2016)

Según el trabajo llevado a cabo por Zhou et al., la α -Syn puede considerarse una clase de DAMP endógeno que se une a TLR o NLR. La α -Syn conduce a la activación de inflammasoma de NLRP3, siendo necesaria la endocitosis de α -Syn. Una vez que α -Syn es endocitada, los lisosomas que contienen α -Syn adoptan una morfología hinchada y sufren un daño estructural, que a su vez produce la expresión de la proteasa lisosómica catepsina B en el citoplasma. Este proceso está involucrado en el inicio de la activación en cascada inducida por α -Syn del inflammasoma NLRP3, que da lugar a la activación de caspasa-1 y una vez activada libera IL-1 β (Fig.6). Además el estrés celular, incluido el flujo de salida de potasio y la generación de ROS, sirve como mecanismo de "puenteo" de la activación inducida por las proteínas microbianas del inflammasoma NLRP3 (Ma et al., 2014). En neuronas dopaminérgicas se expresa microRNA-7 (miR-7) el cual va a reprimir la α -Syn y va a disminuir el daño inflamatorio que se produciría.

6.6 Agentes moduladores del inflammasoma

Una vez descrito el mecanismo por el cual se produce la activación del inflammasoma y por tanto la consecuente inflamación, vamos a describir posibles agentes que van a modular uno o varios de los procesos de regulación y activación con el fin de encontrar moléculas con capacidad antiinflamatoria al inhibir la activación del inflammasoma.

6.6.1 Levornidazol

El levornidazol es un derivado nitroimidazólico, usado para inhibir infecciones de anaerobios y parasitarias. Recientemente se ha descrito un nuevo efecto farmacológico, demostrando el bloqueo de la activación del inflammasoma NLRP3, no permitiéndose la liberación de IL-1 β ni IL-18. Además, se encontró que este efecto inhibitorio del levornidazol se lograba al menos parcialmente al disminuir la generación de ROS mitocondrial, sin inhibir la activación de NF- κ B (Wang et al., 2015).

Sin embargo, el derivado contrario o dextronidazol sometido al mismo ensayo, no tiene un efecto farmacológico marcado sobre el inflammasoma NLRP3.

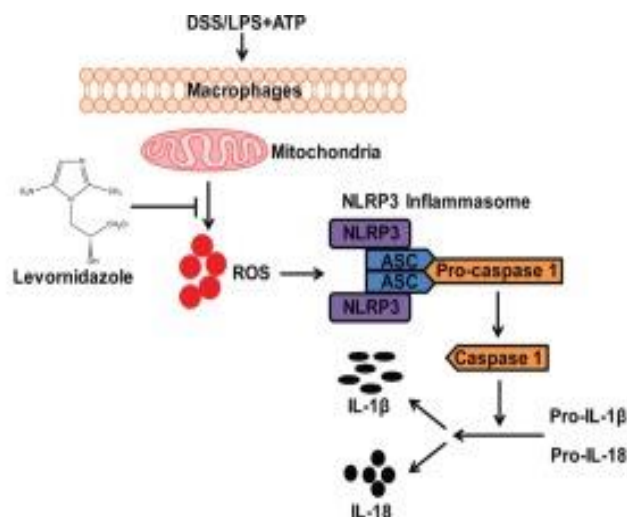


Figura 7. Mecanismo de acción del levornidazol por el que reduce la formación de ROS inhibiendo la activación del inflammasoma. (Tomado de Wang *et al.*, 2015).

6.6.2 Vinagre de bambú

El vinagre de bambú es un líquido de origen natural obtenido a partir del carbón de bambú por medio de la condensación. Es usado en piensos de animales de granja para aumentar su peso, como aditivo alimentario, y con actividad contra el virus de la encefalomiocarditis. Pero hay estudios que determinan al vinagre de bambú como un posible agente antiinflamatorio con una acción farmacológica relacionada con el inflammasoma que le adjudicaría un uso en dermatitis y cáncer de mama (Ho et al., 2013).

El vinagre de bambú está compuesto por agua, ácido acético y varias sustancias de origen orgánico. Realmente es el creosol el que presenta la acción inhibitoria de la activación del inflammasoma NLRP3. En el ensayo clínico consultado, llevado a cabo por Chen-Lung Ho et al., se vio como en inflammasoma NLRP3, con capacidad de activación por ATP y LPS, perdía su capacidad de activación al ser incubados con creosol; no solo reducía la activación de caspasa-1, sino que también inhibía la expresión de NLRP3 y proIL-1 β , precursora de IL-1 β .

6.6.3 Resveratrol

El resveratrol, se trata de un fenol de origen natural, sintetizado por plantas con fines defensivos en respuesta a patógenos o lesiones que puedan sufrir. Se puede encontrar en frutos rojos y en la piel de uva. El resveratrol ejerce una variedad de efectos

beneficiosos regulando la acetilación de proteínas, incluidos los efectos antienvjecimiento, anticancerígenos y antiinflamatorios en modelos animales (Buar y Sinclair, 2006).

Se ha encontrado un mecanismo de acción por el cual, se produce la inhibición del inflammasoma NLRP3, pero no tiene efecto sobre el inflammasoma AIM2, ni sobre NLRC4 (Misawa et al., 2015).

Cuando se da una reducción de los niveles de NAD^+ , señal para la regulación del inflammasoma, se va a producir la inactividad de la enzima α -tubulina desacetilasa también conocida como sirtuina 2, lo que produce una acumulación del sustrato α -tubulina acetilada.

La α -tubulina acetilada media la proximidad de ASC en la mitocondria y NLRP3 en la sala de emergencias y proporciona un sitio óptimo para la activación del NLRP3-inflammasoma. El tratamiento con resveratrol suprimió la acumulación inducida por nigericina o MSU de α -tubulina acetilada, sin afectar la estructura de los microtúbulos. El tratamiento con resveratrol también inhibió el transporte de mitocondrias inducido por nigericina o MSU a la región perinuclear (Misawa et al., 2015). Lo que impide el acercamiento del NRP3 y ASC en ésta región.

Es necesaria la oligomerización de ASC para su posterior unión a NLRP3 y caspasa-1. La inhibición de la polimerización de tubulina y del transporte dependiente de dineína de cargas en microtúbulos acetilados impide la oligomerización de ASC y por consiguiente el ensamblaje del inflammasoma.

6.6.4 Melatonina

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una molécula de origen natural sintetizada en una gran variedad de organismos que regula funciones como el sueño. En vertebrados, la melatonina circulante es producida en la glándula pineal, pero también en órganos como la piel, folículos pilosos, tracto gastrointestinal, glándulas salivales, en linfocitos y plaquetas. Químicamente se trata de una indoleamina, concretamente la N-acetil-5-metoxitriptamina.

Estamos hablando de una molécula con efectos antioxidantes y antiinflamatorios, los cuales tienen acción en determinados procesos fisiopatológicos. Abordando el tema de los procesos inflamatorios, esta interviene por tres mecanismos distintos; la presencia de receptores de melatonina en una línea de mastocitos modula una vía antiinflamatoria a través de la inhibición de la liberación de TNF- α (Carrillo-Vico et al., 2003). Otras acciones antiinflamatorias de la melatonina y sus metabolitos son la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, la producción de moléculas de adhesión y la regulación a la baja de la expresión de ciclooxigenasa 2 en macrófagos, de la adhesión leucocito-endotelial y de la migración de células transendoteliales de leucocitos, junto con la reducción del reclutamiento de células polimorfonucleares al sitio inflamatorio. Además, la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) contribuye significativamente a la inflamación, un proceso que conduce a su vez a la producción adicional de ROS y la activación de las enzimas prooxidantes (Favero et al., 2017).

Dependiendo de las patologías, diferentes autores han investigado el papel de la melatonina en la inhibición del inflamasoma NLRP3:

En lesión pulmonar aguda, el inflamasoma NLRP3 se activa significativamente con una gran cantidad de IL-1 β y la caspasa-1 activada que se produce en el pulmón. La melatonina inhibe la activación del inflamasoma NLRP3 al suprimir la liberación de histonas extracelulares y al bloquear directamente la activación del inflamasoma de NLRP3 inducida por histonas (Zhang et al., 2016).

En mucositis posterior a irradiación, el beneficio terapéutico del gel de melatonina contra la mucositis oral está relacionado con sus efectos inhibidores sobre NF- κ Señalización B / NLRP3 y también en la modulación de un equilibrio correcto entre citocinas pro y antiinflamatorias; además, también se puede atribuir a las capacidades de la melatonina para proteger las mitocondrias de las células epiteliales, así como de las células madre, de la radiación (Ortiz et al, 2015).

Se han encontrado resultados positivos en enfermedades del sistema nervioso central como es el caso del Parkinson, meningitis o accidentes cerebrovasculares en los que la melatonina adopta un papel neuroprotector.

En la obesidad, las afecciones crónicas propias de la enfermedad son desencadenadas por la liberación de citoquinas proinflamatorias. La melatonina exógena mejora la inflamación del tejido adiposo mediante la inhibición de la expresión de genes inflamasoma, incluido NLRP3, proteína moteada asociada a apoptosis que contiene un dominio de reclutamiento de caspasas (ASC) y, por lo tanto, caspasa-1 e IL-1 β . Además, la melatonina en el tejido adiposo reduce la fosforilación de NF- κ B e inhibe la vía de NLRP3 en la parte inferior de la corriente (Favero et al., 2017).

6.6.5 Partenolida y Bay 11-7082 ó BH 11-7082.

La partenolida se trata de una lactona sesquiterpénica encontrada en *Tanacetum parthenium*.

Su efecto inflamatorio se debe a la inhibición de NF- κ B por su capacidad de alquilación de restos de cisteína de IKK β quinasa. Pero recientemente se ha demostrado que este no sería el único mecanismo por el que fuera activo frente a la inactivación de inflamasoma, sino que Juliana et al., investigaron la relación de la partenolida en la inhibición de la caspasa-1. Concluyeron, que en ausencia de partenolida, se producía la autooligomerización de ASC y posterior formación de piroproteoma ASC (aplicando las condiciones adecuadas) permitiendo la transformación de procaspasa-1 a caspasa-1 ya que se detectó la liberación de IL-1. Sin embargo, en presencia de partenolida no era así. Lo que llevó a la conclusión de que aguas debajo de la autooligomerización de ASC es inhibida la activación de la caspasa-1. Se vio que la posible acción podría derivar de la alquilación directa de las cisteínas de la subunidad p-20 de la caspasa-1.

Al igual que ocurre con la partenolida, BH 11-7082, es un compuesto capaz de inhibir NF- κ B por el mismo mecanismo. Pero se ha demostrado, que partenolida va a inhibir distintas rutas de inflamasoma mientras que BH 11-7082 sólo va a participar en la inhibición de NLRP3.

NLRP3 es una ATPasa, y se requiere su actividad ATPasa para reclutar y oligomerizar ASC y activar la caspasa-1 (Duncan et al., 2007). Se ha visto, que posiblemente por alquilación, es por lo que se produce la inhibición de la ATPasa provocado tanto por partenolida como por BH 11-7082. Pero mientras que partenolida actúa inespecíficamente frente a varios inflamasomas que precisan ASC, BH 11-7082 va a ser específico frente a NLRP3.

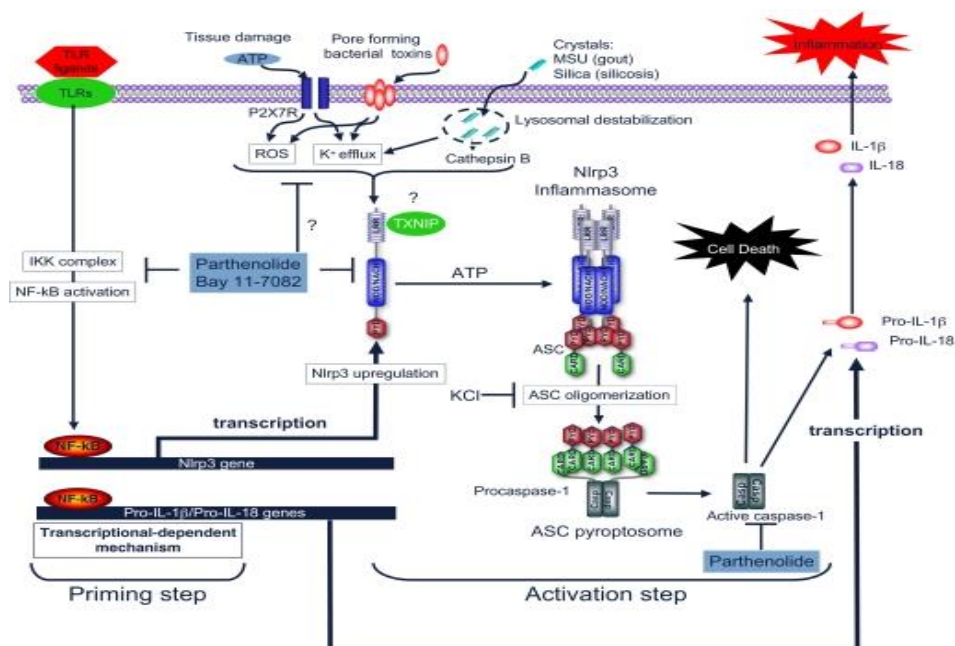


Figura 8. Mecanismo de acción de partenólida y Bay 11-7082. (Tomado de Juliana et al., 2010).

6.6.6 Aspartato y glutamato.

Según el trabajo llevado a cabo por Farooq et al., el aspartato podría intervenir en el proceso de regulación a la baja en la activación del inflammasoma NLRP3 en patologías inflamatorias tanto hepáticas como pancreáticas.

La *N*-metil- D -aspartato (NMDA) se expresa en células de Kupffer y son receptores que al unirse a ligandos heterotetraméricos activados y a una gran variedad de metabolitos entre los que aparecen glutamato y aspartato se ensamblan formando un canal iónico. El receptor está compuesto por varias subunidades, el aspartato y el glutamato se unen a la subunidad GluN2 y se produce la activación del receptor dándose la apertura del canal selectivo de cationes. Se sabe que β-arrestin-2 modula las respuestas inflamatorias (Fan et al., 2014). El aspartato y glutamato van a inhibir la transcripción de la proteína NLRP3 y de la pro-IL- 1β.

El NMDA es activado por el isómero D del aspartato y del glutamato, difíciles de encontrar en vertebrados, pero usual en bacterias. El paso de componentes de bacterias presentes en la microbiota intestinal a través de la circulación portal puede ser la fuente

de D-aspartato y D-glutamato para la activación del NMDA, lo cual lleva a pensar que un aporte de éstos dos aminoácidos por vía portal puede usarse como terapia en las patologías antes citadas.

El etanol va a actuar como un antagonista no competitivo del receptor NMDA.

6.6.7 γ -Tocotrienol

El γ -Tocotrienol (γ T3) es un isómero de la vitamina E insaturada que se sabe que ejerce potentes funciones antiinflamatorias en diversos tipos de células, incluidos macrófagos, adipocitos y varias células cancerosas (Jiang, 2014).

Se le han asociado dos mecanismos de acción por los que el γ -Tocotrienol inhibe la activación de los inflamomas de la familia NLR. En primer lugar se hipotetizó que γ T3 inhibe la vía de señalización de NF κ B mediante la activación de A20, una enzima de edición de ubiquitinación. Además, se planteó la hipótesis de que la activación de A20 dificulta la ubiquitinación de TRAF6 (Factor 6 asociado al receptor de TNF). La formación de una cadena de poliubiquitina en TRAF6 es crítica para la fosforilación mediada por TRAF6 y la activación de IKK. Después de la activación, IKK fosforila el I κ B, que sufre degradación proteosomal permitiendo de este modo que el NF κ B se dimerice en su forma activa (Kim et al., 2016).

7. CONCLUSIÓN

El estudio de las diferentes patologías y la búsqueda de fármacos que puedan paliarlas es tema de vital importancia en el ámbito farmacéutico. Muchas enfermedades derivadas de procesos inflamatorios aún necesitan un tratamiento adecuado. A veces porque aún no se conoce totalmente la patogenia de las mismas.

El abordaje de ésta revisión da una idea de la importancia que tiene el inflamoma en ciertas patologías y por tanto la necesidad de seguir investigando para conocer adecuadamente la regulación y activación de los distintos tipos de inflamomas. Ya que dependiendo del proceso patológico afectado interviene uno u otro. Esto aun plantea muchas dudas que desde el comienzo del siglo XX están siendo despejadas.

La modulación del inflamasoma supone conocer el posible uso de moléculas activas, que tengan como diana ésta plataforma proteica y que puedan ejercer como principios activos para el desarrollo de fármacos que inhiban la liberación de citoquinas inflamatorias obteniendo medicamentos eficaces, seguros y de fácil acceso económico, buscando el bienestar de la población mundial.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Ansari MA , Dutta S, Veetil MV, Dutta D, Iqbal J, Kumar B , Roy A, Chikoti L , Singh VV y Chandran B. Herpesvirus Genome Recognition Induced Acetylation of Nuclear IFI16 Is Essential for Its Cytoplasmic Translocation, Inflammasome and IFN- β Responses. PLoS Pathog. 2015; 11 (7): e1005019.
2. Baur JA , Sinclair DA . Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. Nat Rev Drug Discov. 2006; 5(6):493-506.
3. Campanholle G, Mittelsteadt K, Nakagawa S, Kobayashi A, Lin SL, Gharib S, Heinecke J, Hamerman J, Altemeiers W, Duffield J. TLR-2/TLR-4/TREM-1 signaling pathway is dispensable in inflammatory myeloid cells during sterile kidney injury. PLoS One 2013; 8(7): 1-12.
4. Carrillo-Vico A, García-Mauriño S, Calvo JR y Guerrero JM. La melatonina contrarresta el efecto inhibitor de PGE2 sobre la producción de IL-2 en linfocitos humanos a través de su receptor de membrana mt1. *El diario FASEB*. 2003; 17(6): 755-757
5. Chang A, Ko K, y Clark MR. The emerging role of the inflammasome in kidney diseases. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2014; 23(3): 204-10.
6. Compan V, Baroja-Mazo A, López-Castejón G, Gomez AI, Martínez CM, Angosto D, Montero MT, Herranz AS, Bazán E, Reimers D, Mulero V, Pelegrín P. Cell volume regulation modulates NLRP3 inflammasome activation. Immunity. 2012; 37(3): 487-500
7. Cordero MD , Alcocer-Gómez E , Culic O , Carrión AM , de Miguel M, Díaz-Parrado E, Pérez-Villegas EM, Bullón P, Battino M y Sánchez-Alcazar JA. NLRP3 Inflammasome Is Activated in Fibromyalgia: The Effect of Coenzyme Q₁₀. Antioxid Redox Signal. 2014; 20(8): 1169–1180.
8. de Zoete MR, Palm NW, Zhu S, Flavell RA. Inflammasomes. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2014; 6(12): a016287.
9. Diamond CE, Khameneh HJ, Brough D y Mortellaro A. Nuevas perspectivas sobre la activación inflammasoma no canónica. Dovepress. 2015; 4: 131-141.

10. Duncan JA, Bergstralh DT, Wang Y, Willingham SB, Ye Z, Zimmermann AG y Pan-Yun Ting J. Cryopyrin/NALP3 binds ATP/dATP, is an ATPase, and requires ATP binding to mediate inflammatory signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 104(19): 8041-8046.
11. Fan H, Luttrell LM, Tempel GE, Senn JJ, Halushka PV y Cocinar JA. β -Arrestins 1 y 2 regulan de forma diferencial la señalización inducida por LPS y la expresión de genes proinflamatorios. *Mol Immunol*. 2007; 44 (12): 3092-3099.
12. Fang L, Xie D, Wu X, Cao H, Su W, Yang J. Involvement of endoplasmic reticulum stress in albuminuria induced inflammasome activation in renal proximal tubular cells. *PLoS One*. 2013; 8(8): e72344.
13. Fang R, Hara H, Sakai S, Hernandez-Cuellar E, Mitsuyama M, Kawamura I, and Tsuchiya K: Type I Interferon Signaling Regulates Activation of the Absent in Melanoma 2 Inflammasome during *Streptococcus pneumoniae* Infection. *Infect Immun*. 2014; 82(6): 2310–2317.
14. Farooq A, Hoque R, Ouyang X, Farooq A, Ghani A, Ahsan K, Guerra M, Mehal WZ. Activation of N-methyl-d-aspartate receptor downregulates inflammasome activity and liver inflammation via a β -arrestin-2 pathway. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2014; 307 (7): 732-740.
15. Favero G, Franceschetti L, Bonomini F, Rodella LF y Rezzani R. Melatonin as an Anti-Inflammatory Agent Modulating Inflammasome Activation. *Int J Endocrinol*. 2017; 2017: 1835195.
16. Ho CL, Lin CY, Ka SM, Chen A, Tasi YL, Liu L, Chiu YC, y Hua KF. Bamboo vinegar decreases inflammatory mediator expression and activation of NLRP3 Inflammasome by inhibiting the generation of reactive oxygen species and the activation of protein kinase C- α / δ . *PLoS One*. 2013; 8 (10): e75738.
17. Hoffman HM, Mueller JL, Broide DH, Wanderer AA, Kolodner RD. La mutación de un nuevo gen que codifica una proteína putativa similar a la pirina causa el síndrome autoinflamatorio del frío familiar y el síndrome de Muckle-Wells. *Nat Genet*. 2001; 29 : 301-305

18. Hornung V , Ablasser A , Charrel-Dennis M , Bauernfeind F , Horvath G , Caffrey DR , Latz E , Fitzgerald KA . AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature*. 2009; 458(7237): 514–518.
19. Jiang Q. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant and anti-inflammatory activities and the role in disease prevention and therapy. *Free Radic Biol Med*. 2014; 72: 76-90.
20. Jin T, Curry J, Smith P, Jiang J y Xiao TS: Structure of the NLRP1 caspase recruitment domain suggests potential mechanisms for its association with procaspase-1. *Proteins*. 2013; 81 (7): 1266-1270
21. Jo EK, Kim JK, Shin DM y Sasakawa C. Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation. *Cell Mol Immunol*. 2016; 13(2): 148-159.
22. Jones JW, Kayagaki N, Broz P, Henry T, Newton K, O'Rourke K, Chan S, Dong J, Qu Y, Roose-Girma M, Dixit VM y Monack DM: Absent in melanoma 2 is required for innate immune recognition of *Francisella tularensis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107(21): 9771–9776.
23. Juliana C, Fernandes-Alnemri T, Wu J, Datta P, Solorzano L, Yu JW, Meng R, Quong AA, Latz E, Scott CP, Alnemri ES. Anti-inflammatory compounds parthenolide and Bay 11-7082 are direct inhibitors of the inflammasome. *J Biol Chem*. 2010; 285(13):9792-9802.
24. Kim BH, Chee JD, Bradfield CJ, Park ES, Kumar P y MacMicking JD. Interferon-induced guanylate-binding proteins in inflammasome activation and host defense. *Nature Immunology*. 2016; 17: 481-489.
25. Kim S, Bauernfeind F, Ablasser A, Hartmann G, Fitzgerald KA, Latz E and Hornung V: *Listeria monocytogenes* is sensed by the NLRP3 and AIM2 Inflammasome. *Eur J Immunol*. 2010; 40 (6): 1545-1551.
26. Kim Y, Wang W, Okla M, Kang I, Moreau R y Chung S: Suppression of NLRP3 inflammasome by γ -tocotrienol ameliorates type 2 diabetes. *Lipid Research*. 2016; 57: 66-76.

27. Kolli D, Velayutham T, Casola A. Host-Viral Interactions: Role of pattern recognition receptors (PRRs) in human pneumovirus Infections. *Pathogens* 2013; 2(2):130.
28. Lankanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Plum x.* 2014; 157(5): 1013-1022
29. Li PL. Cardiovascular pathobiology of inflammasomes: inflammatory machinery and beyond. *Antioxid Redox Signal.* 2015; 22(13): 1079-83.
30. Lightfield KL, Persson J, Trinidad NJ, Brubaker CW, Kofoed EM, Sauer JD, Dunipace EA, Warren SE, Miao EA y Vance RE: Differential requirements for NAIP5 in activation of the NLRC4 inflammasome. *Infect Immun.* 2011; 79(4): 1606 - 1614.
31. Ma Q, Chen S, Hu Q, Feng H, Zhang JH, Tang J. NLRP3 inflammasome contributes to inflammation after intracerebral hemorrhage. *Ann Neurol.* 2014; 75(2): 209-219.
32. Misawa T, Saitoh T, Kozaki T, Park S, Takahama M, Akira S. Resveratrol inhibits the acetylated α -tubulin-mediated assembly of the NLRP3-inflammasome. *Int Immunol.* 2015; 27(9): 425-434.
33. Ortiz F, Acuña-Castroviejo D, Doerrier C, et al. La melatonina embota la conexión mitocondrial / NLRP3 y protege contra la mucositis oral inducida por la radiación. *Diario de Pineal Research.* 2015; 58: 34-49
34. Pharam P. *Inmunología. Segunda edición.* Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
35. Prinz M, Priller J, Sisodia SS y Ransohoff RM. Heterogeneity of CNS myeloid cells and their roles in neurodegeneration. *Nat Neurosci.* 2011; 14 (10): 1227-1235.
36. Reynolds J, Martinez G, Chung Y, Dong C. Toll-like receptor 4 signaling in T cells promotes autoimmune inflammation. *PNAS.* 2012; 109 (32): 13064-13069
37. Sumpton JE , Moulin DE. Fibromialgia. *Handb Clin Neurol.* 2014; 119: 513-527.

38. Sutterwala FS, Haasken S, and Cassel SL. Mechanism of NLRP3 inflammasome activation. *Ann NY Acad Sci.* 2014; 1319 (1): 82-95.
39. Toche P. Visión panorámica del sistema inmune. *Revista Médica Clínica Las Condes* 2012; 23: 446-57.
40. Wang X, Wang S, Hu C, Chen W, Shen Y, Wu X, Sun Y, Xu Q. A new pharmacological effect of levornidazole: Inhibition of NLRP3 inflammasome activation. *Biochemical Pharmacology.* 2015; 97 (2): 178-188.
41. Zhang QS, Heng Y, Yuan YH y Chen NH. Pathological α -synuclein exacerbates the progression of Parkinson's disease through microglial activation. *Toxicol Lett.* 2017; 265:30-37.
42. Zhang Y, Li X, Grailer JJ, Wang N, Wang M, Yao J, Zhong R , Gao GF , Ward PA , Tan DX y Li X . Melatonin alleviates acute lung injury through inhibiting the NLRP3 inflammasome. *J Pineal Res.* 2016; 60(4):405-414.
43. Zhang J, Fu S, Sun S, Li Z, y Guo B. Inflammasome activation has an important role in the development of spontaneous colitis. *Mucosal Immunol.* 2014; 7(5): 1139-1150.
44. Zhou Y, Lu M, Du RH, Qiao C, Jiang CY, Zhang KZ, Ding JH y Hu G· MicroRNA-7 targets Nod-like receptor protein 3 inflammasome to modulate neuroinflammation in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Mol Neurodegener.* 2016; 11: 28.