

SESIONES CIENTÍFICAS

Sesión científica conmemorativa del Premio Nobel 2011 de Fisiología o Medicina



Juan Ramón Lacadena Calero

Coordinador de la sesión.

Sesión celebrada el 24 de noviembre de 2011

e-mail: edicion@ranf.com

ORDEN DEL DÍA

Presentación:

“La Institución Nobel premia por décima vez las investigaciones sobre Inmunogenética”

Excmo. Sr. D. Juan-Ramón Lacadena Calero

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

Ponente:

“Avizores del sistema inmunitario”

Prof. Dr. Francisco Sánchez-Madrid

Catedrático de Inmunología, Facultad de Medicina, UAM. Director Científico, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa. Hospital Universitario de la Princesa

La Institución Nobel premia por décima vez las investigaciones sobre Inmunogenética

Juan-Ramón Lacadena Calero

Desde que Karl Landsteiner recibiera en 1930 el premio Nobel “por sus descubrimientos de los grupos sanguíneos en la especie humana”, hasta un total de diez veces se ha concedido el Premio Nobel de Fisiología o Medicina o de Química a investigaciones relacionadas con la Inmunogenética:

- en 1960, a Peter Medawar y Frank Macfarlane Burnet “por su descubrimiento de la tolerancia inmunológica adquirida”;
- en 1972, a Rodney R. Porter y Gerald M. Edelman “por sus descubrimientos de la estructura química de los anticuerpos” (Química);
- en 1980, a George Snell, Baruj Benacerraf y Jean Dausset “por sus descubrimientos sobre las estructuras de las superficies celulares genéticamente determinadas que rigen las reacciones inmunológicas”;
- en 1984, a Niels K. Jerne “por sus teorías sobre la especificidad en el desarrollo y control de los sistemas de inmunidad”;
- en 1984, a George J.F. Köhler y César Milstein “por su descubrimiento del principio que rige la producción de anticuerpos monoclonales”;
- en 1987, a Susumo Tonegawa “por su descubrimiento del fundamento genético de la formación de una rica variedad de anticuerpos”;
- en 1996, a Peter C. Doherty y Rolf M. Zinkernagel “por sus descubrimientos en relación con la especificidad de la respuesta inmune mediatizada por células”;
- en 2011, a Bruce A. Beutler y Jules A. Hoffmann “por sus descubrimientos en relación con la activación de la inmunidad innata”; y
- en 2011, a Ralph M. Steinman “por su descubrimiento de la célula dendrítica y su papel en la inmunidad adaptativa”.

Estos diez galardones superan a los concedidos en otras áreas de investigación genética como son la “Genética y el cáncer” o la “Genética del desarrollo”.

Frente al ataque de microorganismos patógenos (virus, bacterias, hongos, protozoos) el organismo presenta dos líneas de defensa: la primera –la inmunidad innata– puede destruir a los organismos invasores y desencadenar una inflamación que contribuye a detener el ataque externo; sin embargo, si los

microorganismos atacantes salvan esta primera barrea defensiva es cuando entra en acción la segunda línea de defensa –la inmunidad adaptativa– con la actividad de las células T que destruyen las células infectadas. Así como la inmunidad innata “no tiene memoria”, el sistema inmune adaptativo mantiene una memoria inmunológica que actúa rápidamente en caso de que el organismo vuelva a ser atacado por el mismo agente patógeno.

Como señalaba el comunicado de prensa de la Asamblea Nobel del Instituto Karolinska, aunque durante el pasado siglo se habían identificado los componentes del sistema inmune mediante investigaciones que habían sido galardonadas en su momento con el premio Nobel, sin embargo han sido las investigaciones de Beutler, Hoffmann y Steinman galardonadas en 2011 las que han permitido conocer los mecanismos que activan la inmunidad innata y establecen la comunicación entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa.

INMUNIDAD INNATA

En mi opinión, podría decirse que el descubrimiento de los sensores de la inmunidad innata tuvo algo de azar. En efecto, Jules A. Hoffmann y colaboradores, que investigaban cómo la mosca del vinagre, *Drosophila*, combatía las infecciones de bacterias y hongos, utilizaron distintas cepas observando que los mutantes para el gen Toll descubierto por Christiane Nüsslein-Volhard morían por ataque de los microorganismos, concluyendo que el producto del gen Toll estaba implicado en la detección de los organismos patógenos, siendo necesaria su activación para lograr una defensa eficaz frente al ataque externo. Nüsslein-Volhard –que compartió con Erick F. Wieschaus y Edward B. Lewis en 1995 el Premio Nobel “por sus descubrimientos sobre el control genético del desarrollo temprano del embrión”– descubrió en 1985 el gen Toll como responsable del desarrollo embrionario, controlando la polaridad dorsal-ventral del embrión (2,3) y comportándose como un gen de efecto materno; es decir, es un caso de efecto del genotipo materno vía citoplasma a través del ARN mensajero en la expresión del fenotipo (4).

Por otro lado, Bruce A. Beutler trataba de encontrar un receptor capaz de unirse al lipopolisacárido (LPS) bacteriano que puede producir un choque séptico que lleva aparejada la sobreestimulación del sistema inmune. En 1998, Beutler y colaboradores (5) encontraron que ratones resistentes a LPS eran mutantes para un gen análogo al gen Toll de *Drosophila*, demostrándose que este receptor análogo a Toll (TLR, por Toll-like receptor) era el buscado receptor para LPS. Cuando TLR se une a LPS se activan las señales que producen inflamación, pero si las dosis de LPS son excesivas se produce el choque séptico.

Ambos tipos de investigaciones llevaron a la conclusión de que tanto un insecto (la mosca del vinagre, *Drosophila*) como un mamífero (el ratón) utilizan moléculas similares para activar la inmunidad innata frente a microorganismos

patógenos. Hoy día se han identificado en ratón y en humanos una docena de receptores TLR diferentes. Individuos mutantes para algunos de los genes correspondientes resultan ser más susceptibles a infecciones mientras que otras variantes genéticas pueden aumentar el riesgo de padecer enfermedades inflamatorias crónicas.

INMUNIDAD ADAPTATIVA

El nexo de unión entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa se descubrió gracias a las investigaciones de Ralph M. Steinman y colaboradores a partir de su descubrimiento en 1973 de las células dendríticas en órganos linfoides periféricos del ratón (6) y la demostración de que tienen la capacidad única de activar las células T (7) que juegan un papel clave en la inmunidad adaptativa. Posteriormente se demostró que señales procedentes de la respuesta de inmunidad innata son reconocidas por las células dendríticas, controlando la activación de las células T (8).

En el caso del Dr. Steinman se han producido dos circunstancias especiales:

La primera circunstancia es que él falleció el 30 de septiembre de 2011, tres días antes de que se hiciera público que se le había concedido el Premio Nobel, creándose un situación un tanto complicada porque los estatutos de la Institución Nobel exigen que la persona galardonada esté viva aunque se mantendría el premio si el galardonado falleciera en el lapso de tiempo que media entre cuando se hace pública la concesión y la ceremonia oficial de entrega de los premios el 10 de diciembre de cada año. Por tanto, habría un problema si realmente la deliberación final de la Asamblea Nobel formada por 50 profesores del Instituto Karolinska tuvo lugar el 3 de octubre como parece deducirse de la nota oficial pública. Otra solución podría darse si realmente el Comité Nobel, formado por 5 miembros más el secretario que evalúa las nominaciones, hubiera decidido hacer la propuesta del Premio Nobel antes del 30 de septiembre cuando el Dr. Steinman aún estaba vivo. No obstante, finalmente, el Comité Nobel decidió mantener el premio a título póstumo. Según recogía algún medio de comunicación (M. Ramírez, Crónica, El Mundo, 9/10/2011), Steinman luchaba por alargar su vida porque tenía la esperanza de ser galardonado con el Premio Nobel y le decía a su hija Alexis que “tengo que aguantar hasta el lunes. Si me muero, no os van a dar el Nobel a vosotros”. Decía su viuda, Claudia, que sólo le había comunicado su fallecimiento a dos personas de la Universidad de manera que la mayoría de su equipo celebró al amanecer del lunes 3 de octubre la concesión del Premio Nobel y media hora más tarde les llegó el duelo con la noticia de que había fallecido el viernes anterior 30 de septiembre.

Aunque en los medios de comunicación se ha extendido la idea de que Steinman ha sido el primer caso excepcional de premio Nobel póstumo, en realidad

no es así porque en 1961 se le concedió el Premio Nobel de la Paz a título póstumo a Dag Hammarskjöld, Secretario General de Naciones Unidas, que había fallecido el 18 de septiembre de 1961 en un accidente de aviación en África.

La segunda circunstancia, se refiere al hecho de que, estando padeciendo un cáncer de páncreas desde hacía cuatro años, el Dr. Steinman se sometió a una nueva terapia diseñada por él mismo con sus propias células dendríticas en coherencia con sus investigaciones. Algo así como si fuera su propia cobaya humana. En este contexto, se puede mencionar también que el premio Nobel Barry J. Marshall, galardonado en 2005 “por su descubrimiento de la bacteria *Helicobacter pylori* y su papel en la gastritis y en la úlcera péptica”, se autoinoculó con la bacteria para confirmar su hipótesis de trabajo, haciendo también de cobaya humana.

Como señalaba la nota de prensa de la Asamblea Nobel del Instituto Karolinska, los descubrimientos básicos galardonados con el Premio Nobel de Fisiología o Medicina 2011 han permitido desarrollar en Medicina nuevos métodos para la obtención de vacunas contra infecciones o intentar estimular el sistema inmune para atacar tumores, así como avanzar en el conocimiento de las enfermedades autoinmunes.

GENÉTICA Y PREMIOS NOBEL: UNA CONSIDERACIÓN GENERAL

Las circunstancias me obligan a reiterar aquí y ahora lo que he dicho en años anteriores en este mismo acto: como profesional de la Genética me siento orgulloso de que, un año más, investigaciones de esta área científica hayan sido galardonadas con el Premio Nobel. Así pues, repitiendo y actualizando lo que he venido diciendo en otras ocasiones, hoy, en 2011, podemos estar orgullosos los amantes de la Genética porque ya son 39 las veces en que el galardón Nobel ha correspondido a 87 científicos del campo de la Genética o ciencias afines. De los 39 premios considerados, 30 pertenecen al ámbito de la Fisiología o Medicina, 8 a la Química y 1 de la Paz y, a su vez, de los 87 científicos galardonados, 68 corresponden a premios de Fisiología o Medicina, 18 de Química y 1 de la Paz. Por cierto que, de estos 87 científicos, ¡solamente 7 de ellos son mujeres!: Barbara McClintock (1983), Christiane Nüsslein-Volhard (1995), Linda S. Buck (2004), Françoise Barré-Sinoussi (2008), Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider y Ada E. Yonath (2009), lo cual supone un 8 %.

Finalmente, me gustaría destacar que en estos once últimos años (2001-2011) se ha premiado la investigación genética en once ocasiones: así en 2001 (Hartwell, Hunt y Nurse, “por sus descubrimientos de los reguladores clave del ciclo celular”), 2002 (Brenner, Horvitz y Sulston, “por sus descubrimientos sobre la regulación genética del desarrollo de los órganos y la muerte celular programada”), 2004 (Axel y Buck, “por sus descubrimientos de receptores

olorosos y la organización del sistema olfativo”), 2006 (Fire y Mello, “por su descubrimiento de la interferencia por ARN: silenciamiento de genes por ARN de doble cadena”), 2006 (Kornberg, “por sus estudios de la base molecular de la transcripción eucariótica”), 2007 (Capecchi, Evans y Smithies, “por sus descubrimientos de los principios para introducir modificaciones génicas específicas en ratones mediante el uso de células troncales embrionarias”), 2008 (zur Hausen, “por su descubrimiento de los virus del papiloma humano causantes del cáncer cervical”; Barré-Sinoussi y Montagnier, “por su descubrimiento del virus de la inmunodeficiencia humana”), 2008 (Shimomura, Chalfie y Tsien, “por el descubrimiento y desarrollo de la proteína fluorescente verde, GFP”), 2009 (Blackburn, Greider y Szostack, “por el descubrimiento de cómo los cromosomas son protegidos por los telómeros y la enzima telomerasa”), 2009 (Ramakrishnan, Steitz y Yonath, “por los estudios de la estructura y función del ribosoma”) y, finalmente, en 2011 (Beutler y Hoffmann, “por sus descubrimientos en relación con la inmunidad innata” y Steinman, “por su descubrimiento de la célula dendrítica y su papel en la inmunidad adaptativa”). Sin duda, es una década prodigiosa para la Genética como una Alicia en el “País de las maravillas moleculares”.

En 1995 inicié con mi discurso de ingreso en esta Real Academia una Historia “nobelada” de la Genética (9) que tuve la oportunidad de actualizar doce años después, en 2007 (10), y que he puesto al día en 2011. No obstante, al paso que vamos, es posible que pronto se vuelva a quedar vieja y me veré gustosamente obligado a hacer otra reedición actualizada.

Teniendo en cuenta el concepto de Genética como “la Ciencia que estudia el material hereditario –los genes– bajo cualquier nivel o dimensión”, el contenido formal de la Genética tiene que dar respuesta a las siguientes preguntas en torno a los genes: ¿qué son? ¿cómo se organizan y transmiten? ¿cómo y cuándo se expresan? ¿cómo cambian? ¿cuál es su destino en el espacio y en el tiempo?

A continuación, se indica la aportación que han hecho a los diversos aspectos en el campo de la Genética los diferentes premios Nobel, aunque en ocasiones la cuestión científica en consideración no corresponda exactamente a la investigación premiada (basado en 10). En los cuadros que siguen, las fechas indicadas en primer lugar corresponden a las de publicación de los trabajos originales fundamentales que dieron lugar al premio, mientras que las que aparecen detrás de los nombres hacen referencia a las fechas de concesión del premio Nobel correspondiente.

PREGUNTAS EN TORNO A LOS GENES

¿Qué son los genes?

- Química de los ácidos nucleicos (1893-1894): Kossel (1910)
- Síntesis de nucleótidos (1952): Todd (1957)
- Los genes son ADN. Fagos radiactivos (1952): Hershey (1969)
- Modelo estructural del ADN (1953): Watson, Crick y Wilkins (1962)

¿Cómo se organizan y transmiten los genes?

- Estructura de la cromatina (1974, 1977): Kornberg, R.D. (2006), Klug (1982)
- Estructura del cromosoma eucariótico: telómeros y telomerasa (1982, 1985, 1989): Blackburn, Greider y Szostak (2009)
- Transmisión molecular:
- Replicación semiconservativa (1953) (propuesta por Watson y Crick, 1962)
- Síntesis enzimática del ADN (1956): Kornberg, A. (1959)
- Síntesis enzimática del ARN (1955): Ochoa (1959)
- Transmisión celular: teoría cromosómica de la herencia.
- Los genes están en los cromosomas (1910): Morgan (1933)
- Control genético del ciclo celular (1970, 1981) y ciclinas (1983): Hartwell, Hunt y Nurse (2001)
- Sobrecruzamiento y recombinación (1931): McClintock (1983)

¿Cómo y cuándo se expresan los genes?

- Hipótesis un gen-una enzima (1941): Beadle y Tatum (1958)
- Hipótesis de la secuencia (1958): Crick (1962)
- Desciframiento de la clave del código genético (1961): Ochoa (1959), Nirenberg y Khorana (1968)
- El ARN mensajero (1961): Jacob (1965) y Brenner (2002)
- Análisis molecular de la transcripción en eucariontes (2001): Kornberg, R.D. (2006)
- Análisis molecular de la traducción: estructura molecular y función del ribosoma (1980s, 1998, 2000): Ramakrishnan, Steitz y Yonath (2009)
- El ARN transferente (1965): Holley (1968)
- Genes discontinuos (1977): Sharp y Roberts (1993)
- Procesamiento y actividad catalítica del ARN (1981, 1983): Altman y Cech (1989)

- Regulación de la expresión génica. Modelo del operón (1961): Jacob y Monod (1965)
- Regulación de la expresión génica mediante interferencia del ARN (1998): Fire y Mello (2006)
- Control genético del desarrollo embrionario temprano en *Drosophila* (1978, 1980): Lewis, Nüsslein-Volhard y Wieschaus (1995)
- Control genético de la organogénesis y de la muerte celular programada en *Caenorhabditis elegans* (1974, 1977, 1986): Brenner, Horvitz y Sulston (2002)
- Utilización de los ratones knockout (tecnología knockout) en estudios de genética del desarrollo (1981, 1986, 1987): Capecchi, Evans y Smithies (2007)
- Utilización del gen de la proteína fluorescente verde (GFP) para detectar la expresión de los genes (1994): Chalfie (2008)

¿Cómo cambian los genes?

- Inducción de mutaciones con rayos X (1927): Muller (1946)
- Mutagénesis dirigida (1978): Smith (1993)
- Elementos genéticos móviles (1951): McClintock (1983)

¿Cuál es el destino de los genes en el espacio y en el tiempo?

- Ningún premio Nobel, hasta ahora

TÉCNICAS

- Tecnología de ácidos nucleicos
- Endonucleasas de restricción (1973): Arber, Smith y Nathans (1978)
- Secuenciación del ADN (1975, 1977): Gilbert y Sanger (1980)
- Moléculas de ADN recombinante (1972): Berg (1980)
- Reacción en cadena de la polimerasa, PCR (1985): Mullis (1993)
- Mutagénesis dirigida (1979): Smith (1993)
- Tecnología knock-out (1981, 1986, 1987): Capecchi, Evans y Smithies (2007)
- Proteína fluorescente verde, GFP (1962, 1994): Shimomura, Chalfie y Tsien (2008)
- Técnicas de apoyo
- Anticuerpos monoclonales (1975): Köhler y Milstein (1984)
- Fecundación *in vitro* (1970): Edwards (2010)
- Ultracentrífuga: Svedberg (1926)
- Electroforesis: Tiselius (1948)

- Microscopio electrónico: Ruska (1986)
- Microscopio electrónico de barrido: Binning y Rohrer (1986)

ÁREAS DE INVESTIGACIÓN

El material hereditario: Los genes (ver cuadro anterior)

- qué son
- cómo se organizan y transmiten
- cómo y cuándo se expresan
- cómo cambian
- cuál es su destino en el espacio y en el tiempo

Inmunogenética

- Inmunología de los grupos sanguíneos humanos (1900, 1901): Landsteiner (1930)
- Tolerancia inmunológica y teoría de la selección clonal (1959): Medawar y Burnet (1960)
- Estructura química de los anticuerpos (1969): Porter y Edelman (1972)
- Sistemas de histoincompatibilidad (1948, 1958): Snell, Benacerraf y Dausset (1980)
- Control de sistemas de inmunidad: Jerne (1984)
- Anticuerpos monoclonales (1975): Köhler y Milstein (1984)
- Base genética de la diversidad de los anticuerpos (1976): Tonegawa (1987)
- Especificidad de la respuesta inmune mediatizada por células (1973, 1975): Doherty y Zinkernagel (1996)
- El virus de inmunodeficiencia humana, HIV (1983): Barré-Sinoussi y Montagnier (2008)
- Inmunidad innata (1996, 1998): Hoffmann y Beutler (2011)
- Células dendríticas y su papel en la inmunidad adaptativa (1973): Steinman (2011)

Genética y cáncer

- Interacción entre los virus tumorales y el material genético de las células (1964, 1970): Dulbecco, Baltimore y Temin (1975)
- Origen celular de los oncogenes retrovirales (1976): Bishop y Varmus (1989)
- Control genético del ciclo celular (1970, 1981) y las ciclinas (1983): Hartwell, Hunt y Nurse (2001)
- Papel de la telomerasa en el envejecimiento y el cáncer (1997): Greider (2009)

Genética del desarrollo

- Regulación de la expresión génica. Modelo del operón (1961): Jacob y Monod (1965)
- Regulación de la expresión génica por ARN de interferencia (1998): Fire y Mello (2006)
- El efecto organizador en el desarrollo embrionario de anfibios: Spemann (1935)
- Control genético del desarrollo embrionario temprano en *Drosophila* (1978, 1980): Lewis, Nüsslein-Volhard y Wieschaus (1995)
- Control genético de la organogénesis y de la muerte celular programada en *Caenorhabditis elegans* (1974, 1977, 1986): Brenner, Horvitz y Sulston (2002)
- Tecnología knock-out (1981, 1986, 1987): Capecchi, Evans y Smithies (2007)
- Fecundación *in vitro* (1970, 1971, 1978): Edwards (2010)
- Control genético y organización del sistema olfativo (1991): Axel y Buck (2004)

Genética aplicada a la mejora de plantas

- La revolución verde: Borlaug (1970)

Para finalizar, permítaseme hacer alguna profecía, repitiendo la que hice el año pasado en las presentes circunstancias: que, antes o después, los grandes pioneros de la Genómica (¿Venter, Collins?) y la Reprogramación celular (¿Wilmot, Yamanaka, Thomson?) serán galardonados con el Premio Nobel. Por de pronto, Yamanaka ha recibido junto con Gurdon el premio Albert Lasker, que para muchos es la antesala del Premio Nobel, premiando su aportación fundamental al tema de la reprogramación nuclear.

REFERENCIAS

1. Lemaitre, B., Nicolas, E., Michaut, L., Reichhart, J.M., Hoffmann, J.A. (1996). The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adult. *Cell*, 86, 973-983.
2. Anderson, K.V., Jurgens, G., Nüsslein-Volhard, C. (1985). Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: Genetic studies on the role of the Toll gene product. *Cell*, 42, 779-789.
3. Anderson, K.V., Bokla, L.; Nüsslein-Volhard, C. (1985). Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: the induction of polarity by the Toll gene product. *Cell*, 42, 791-798.

4. Anderson, K.V., Nüsslein-Volhard, C. (1984). Information for the dorsal-ventral pattern of the *Drosophila* embryo is stored as maternal mRNA. *Nature*, 311, 223-227.
5. Poltorak, A., He, X., Smirnova, I., Liu, M.Y., Van Huffel, C., Du, X.; Birdwell, D., Alejos, E., Silva, M., Galanos, C., Freudenberg, M., Ricciardi-Castagnoli, P., Layton, B., Beutler, B. (1998). Defective LPS signalling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: Mutations in Tlr4 gene. *Science*, 282:2085-2088.
6. Steinman, R.M., Cohn, Z.A. 1973. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. *J. Exp. Med.*, 137, 1142-1162.
7. Steinman, R.M., Witmer, M.D. (1978). Lymphoid dendritic cells are potent stimulators of the primary mixed leukocyte reaction in mice. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 75, 5132-5136.
8. Schuler, G., Steinman, R.M. (1985). Murine epidermal Langerhans cells mature into potent immunostimulatory dendritic cells in vitro. *J. Exp. Med.*, 161, 526:546.
9. Lacadena, J.R. (1995). Historia “nobelada” de la Genética: Concepto y método. Discurso de Ingreso como Académico de Número en la Real Academia de Farmacia del Instituto de España, leído el 14 diciembre de 1995.
10. Lacadena, J.R. (2007). Conmemorando los 100 años del término “Genética” (1905-2005): Una historia “nobelada” de la Genética. Conferencia Plenaria pronunciada en el Congreso de la Sociedad Española de Genética, Almería 2005, Secretariado de Publicaciones, Universidad de León.

Avizores del sistema inmunitario

Francisco Sánchez Madrid

INTRODUCCIÓN: RESPUESTA INMUNE INNATA

Los linfocitos poseen componentes moleculares de reconocimiento de antígenos extraordinariamente complejos y sofisticados: el receptor de antígeno de los linfocitos T y los anticuerpos de los linfocitos B. Este mecanismo hace posible que nuestro organismo se defienda de forma específica de determinados patógenos con los que ha entrado en contacto con anterioridad. Esto es lo que denominamos la inmunidad adaptativa. Otros componentes, de menor complejidad y diversidad, pero dotados de una gran eficiencia, conforman la llamada inmunidad innata o natural. La inmunidad innata tiene como primer objetivo ser la línea de contención inmediata frente a una infección, controlando y eliminando los agentes patógenos. Su segundo objetivo consiste en advertir y activar a la respuesta inmune adaptativa.

Entre las propiedades de la respuesta inmune innata se incluyen la actuación inmediata, que no requiere una sensibilización previa, y su amplia especificidad frente a sustancias ajenas al organismo que se lleva a cabo gracias al reconocimiento de patrones moleculares microbianos (PAMPs), que tienen en común determinados grupos de microorganismos. De esta forma, la respuesta innata contiene solo un número limitado de receptores para PAMPs (del orden de 10³). Este aspecto contrasta con la respuesta inmune adaptativa, que reconoce detalles estructurales de componentes tanto microbianos como no microbianos, siendo la potencialidad de su repertorio de reconocimiento mucho mayor (del orden de 10⁹).

El grupo del Prof. C. Janeway, postuló que las estructuras y patrones microbianos que pueden ser reconocidas por la inmunidad innata, además de desempeñar un papel crítico en la inducción de la respuesta adaptativa posterior, deben cumplir las siguientes propiedades: i) estar ausentes en el organismo huésped; ii) estar conservadas en un gran número de microorganismos, de modo que puedan ser reconocidas por un número limitado de receptores; y iii) ser componentes esenciales de los microorganismos para así evitar su posible evasión del sistema inmune mediante mutación (1). Ejemplos de estos patrones microbianos son: el lipopolisacárido de la membrana exterior de las bacterias gram-negativas, los peptidoglicanos, los lipopéptidos, las secuencias CpG no

metiladas de ADN bacteriano o el ARN vírico de doble cadena. Curiosamente, se conocía con anterioridad que todos esos tipos de moléculas eran capaces de inducir la cascada de señalización que conduce a la activación del factor de transcripción nuclear- κ B (NF- κ B) y así como de la respuesta inflamatoria. En ausencia del conocimiento detallado de los receptores para dichas estructuras microbianas, también se enunciaron hipótesis alternativas, donde se sustituyen las estructuras microbianas extrañas al organismo, por las señales de peligro que pueden surgir tanto del exterior como del interior celular (2).

Las células que componen el sistema inmune innato, son esencialmente los fagocitos (neutrófilos, monocitos y macrófagos) y las Células Dendríticas (DCs). Además, forman parte de la respuesta innata, las células citotóxicas naturales o NK y el sistema de complemento, que se ocupan de reconocer células dañadas o infectadas y eliminarlas.

Debido al hecho de que algunos de estos tipos celulares poseen un sistema de receptores que reconoce patrones moleculares invariables, comunes para muchos microbios, su activación es considerablemente más rápida que la observada en la respuesta adaptativa. Esto las convierte en la primera barrera de la respuesta inmune, que permite el inicio de la respuesta inmunitaria. Aún así, la comunicación entre los dos tipos de inmunidad, innata y adaptativa, es necesaria para una respuesta inmune completa. El eslabón entre ambas ramas lo constituyen, precisamente, las DCs.

El Nobel de Fisiología y Medicina 2011 premia tanto las investigaciones que asentaron las bases del reconocimiento de patógenos por parte del sistema inmune innato como el descubrimiento de las Células Dendríticas y su papel en la inmunidad adquirida. Los Profesores Jules Hoffman (Instituto de Biología Celular y Molecular, Universidad Estrasburgo, Francia), y Bruce A Beutler (Instituto de Investigación Scripps, La Jolla, CA) han sido galardonados por el descubrimiento de los sensores moleculares de las células del sistema inmune innato (macrófagos y Células Dendríticas), con los que detectan a los microbios patógenos, así como la ruta de activación intracelular que desencadena la respuesta inflamatoria. El Prof. Ralph M Steinman (Universidad Rockefeller, New York) comparte con ellos el Premio por su descubrimiento de las Células Dendríticas y por las investigaciones posteriores, de enorme trascendencia en medicina, que sitúan a este tipo celular como nexo entre las dos ramas de la respuesta inmune.

El descubrimiento del sistema de reconocimiento de los TLRs (toll y los Toll-Like Receptors).

La inmunidad innata, primera línea de defensa, opera tanto en animales invertebrados como vertebrados para contener agentes infecciosos, hallándose conservados los sensores para patógenos en ellos. Los estudios del grupo de Prof. J

Hoffman en la mosca *Drosophila melanogaster*, parten de los estudios de la Dra C. Nusslein-Volhard, al comienzo de la década de los 80, sobre genes implicados en el desarrollo de la mosca, que organizan su simetría y polaridad, entre los que identificó el gen toll (del alemán: Súper, Fantástico), que controla el establecimiento de su eje dorso-ventral (3).

Siguiendo la estela del trabajo del Prof. H Boman, que identificó en la hemolinfa del insecto una serie de potentes péptidos catiónicos antimicrobianos (4), el grupo del Dr. Hoffman identificó una nueva función para el gen toll; la defensa de invertebrados frente a infecciones fúngicas (5). Concretamente, mediante el estudio de la regulación del péptido anti-fúngico drosomicina, observó que los mutantes en el gen Toll no eran capaces de expresar la drosomicina, y por tanto, eran muy susceptibles a las infecciones por el hongo *Aspergillus fumigatus*. Otro hallazgo de gran interés del grupo del Prof. Hoffman consistió en la identificación de motivos estructurales para NF- κ B en la drosomicina (6). Conjuntamente con el grupo del Dr. Charles Janeway propusieron así la existencia de mecanismos y receptores conservados evolutivamente en invertebrados y mamíferos, responsables del control de la respuesta inmune innata (7, 8). Poco después, se revelaría la homología de las regiones citoplásmicas del receptor de IL-1 con la proteína Toll (9).

De forma independiente, el grupo del Dr. Beutler, mediante el análisis del proceso molecular de la sepsis durante la respuesta a infecciones por bacterias gram-negativas en ratones, descubrió el gen responsable de su reconocimiento por parte de los macrófagos. El receptor codificado por dicho gen, denominado tlr4 (Toll-like receptor, "receptor parecido a toll"), por su gran homología con el gen toll de *Drosophila*, reconoce el lipopolisacárido o endotoxina, componente patogénico de las bacterias. A la vez, Beutler y otros describieron la serie de procesos intracelulares que se desencadena después de la activación de este receptor TLR-4, que culmina en la producción de proteínas y citocinas pro-inflamatorias, como el Factor de Necrosis Tumoral (TNF-alfa). Desde entonces se consideraría a éste como indicador paradigmático de la inducción de la respuesta inflamatoria (10, 11).

ESTRUCTURA, FUNCIÓN Y LIGANDOS DE LOS TLRs

Gracias a estos primeros estudios, se conocen actualmente al menos 11 genes TLRs, implicados en la defensa frente a agentes bacterianos, fúngicos y víricos. Se pueden agrupar en dos categorías, dependiendo de si su expresión es en la membrana plasmática o bien en compartimentos endosomales. Entre los TLRs expuestos en membrana celular, están TLR2, que puede asociarse a TLR1 o TLR6 para reconocer lipopéptidos di- o tri-acilados; TLR 5 y TLR 11, que detectan respectivamente las proteínas bacterianas flagelina, un componente esencial de la estructura del flagelo, o profilina del protozoo *Toxoplasma*. TLR4 a su vez, se

encuentra en la membrana formando un complejo ternario con CD14, una molécula anclada por un enlace GPI, y la proteína de unión a lípidos MD2. La formación del complejo es necesaria para la transmisión de la señal intracelular (12). Los TLRs endosomales comprenden a TLR3, que reconoce ADN viral de doble cadena, TLR7 y 8, que reconocen ADN de cadena simple, y TLR9 para secuencias CpG no metiladas en ADN bacterianos. Estos TLRs son importantes como sistema sensor de infecciones intracelulares tanto víricas como bacterianas.

Aún no se conocen los detalles precisos de cómo los TLRs pueden unir un abanico de ligandos estructuralmente tan diferentes como los ácidos nucleicos, y los lípidos. Los TLRs son proteínas integrales de membrana tipo I, que poseen secuencias repetidas ricas en leucina en sus regiones extracelulares y una corta secuencia de cisteínas. Los análisis estructurales de la interacción de algunos TLRs con sus ligandos a través de sus dominios de leucina (estructura en "herradura") han revelado una gran versatilidad y flexibilidad para acomodar estructuras muy variadas, y transmitir en todos los casos la señal de unión al ligando a su región C-terminal intracelular. Pero quizás lo más característico de los TLRs sea su dominio intra-citoplásmico (dominio TIR), que tiene gran homología al del receptor de IL-1 (13).

TLRS Y SEÑALES PRO-INFLAMATORIAS

La disposición de un dominio TIR permite a los receptores TLRs transmitir señales intracelulares que conectan con la activación génica en el núcleo. La cascada de señalización que desencadena la activación del dominio TIR se estableció en el marco del Receptor para IL-1 (14,15). Mediante este dominio, los TLRs conectan con las proteínas adaptadoras MyD88, MAL/TYRAP, TRIF o TRAM. Los diferentes TLRs, utilizan diversas combinaciones de estas proteínas que van a reclutar a su vez los complejos señalizadores interaccionando con IRAK (Kinasa asociada al Receptor de IL-1) y activando a TRAF6 (Factor Asociado al Receptor de TNF 6). Este factor estimula entonces a las proteínas NIK y TAK-1, que confluyen en la activación de las kinasas MAP e IκB. Finalmente, se translocan al núcleo los Factores de transcripción AP-1 y NF-κB, dando lugar a la activación de la transcripción de genes de citocinas pro-inflamatorias, como TNF alfa, IL-1, IL-6; quimiocinas y moléculas de adhesión.

Por tanto, los TLRs actúan como auténticos receptores para patrones estructurales microbianos y como elementos señalizadores desencadenantes del proceso inflamatorio.

OTRAS FAMILIAS DE RECEPTORES PARA COMPONENTES MICROBIANOS

Las líneas de investigación mencionadas anteriormente han dado pie a ampliar el concepto de la inmunidad innata como defensa frente a señales de peligro, tanto extracelulares como intracelulares, a otras familias de receptores

estructuralmente diferentes de los TLRs, como las lectinas animales de tipo C, las proteínas de reconocimiento de peptidoglicanos y beta-glucanos, los receptores RIG-like o los NLR (receptores tipo Nod) (16). Junto a los TLRs, su proyección y relevancia se ha mostrado extraordinaria en enfermedades crónicas no infecciosas de gran prevalencia en la población, como son los trastornos autoinmunes y cardiovasculares. Así, se ha observado que los TLRs también pueden unir moléculas endógenas como LDLox, componentes de la matriz extracelular, o proteínas de choque térmico o estrés (17, 18). El conocimiento generado por estos estudios sobre los mecanismos de señalización de los TLRs, abren nuevas perspectivas en los tratamientos tanto para enfermedades inflamatorias crónicas como las cardiovasculares.

EL DESCUBRIMIENTO DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS

Tras identificar y definir por primera vez este nuevo tipo de células inmunes en el año 1973 (19), el Prof. Ralph Steinman hubo de demostrar inequívocamente que se trataba de un linaje celular distinto al de los macrófagos mostrando, por tanto, características de diferenciación y función propias. La lucha del Prof. Steinman para que la relevancia de las Células Dendríticas, en la encrucijada de la respuesta innata con la respuesta adaptativa, fuera reconocida por la comunidad científica fue a la vez titánica y elegante. Abrió así un nuevo área de investigación, demostrando que las Células Dendríticas representan el eslabón perdido entre respuesta inmune innata y adaptativa, siendo esenciales para el inicio de la respuesta inmune adaptativa y por tanto para una completa y eficiente defensa del organismo.

Las Células Dendríticas capturan microbios, mediante su repertorio de receptores para patrones moleculares microbianos, como los TLRs, maduran como respuesta al patógeno detectado y se dirigen a los órganos linfoides, donde presentan los antígenos a los linfocitos, células del sistema inmune adaptativo. De esta manera, las Células Dendríticas informan de la presencia de patógenos, iniciándose así la activación y diferenciación celular que dará lugar a los diferentes tipos de linfocitos efectores.

ONTOGENIA DE LOS MACRÓFAGOS Y LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS

Los monocitos, macrófagos y Células Dendríticas (DCs) son componentes esenciales en la regulación de la respuesta innata frente a infecciones por microorganismos. Los monocitos que circulan en la corriente sanguínea proceden de un precursor de la médula ósea común para monocito/Macrófago/DC (MDP), con un fenotipo característico Lin- cKit+ CD115+ CX3CR1+ Flt3+. Este precursor puede originar tanto macrófagos como DCs plasmacitoides (pDCs) y DCs convencionales (cDCs); estas células juegan un papel esencial en el desarrollo del proceso inflamatorio.

Los monocitos Ly6C- generan los macrófagos residentes de tejido que se encuentran en el bazo, hígado, pulmón, o intestino, y que realizan un papel de centinelas en dichos tejidos, mientras que los monocitos Ly6C+ se diferencian a macrófagos inflamatorios en respuesta a infecciones o estímulos inflamatorios. Estos últimos pueden ser de dos tipos: los macrófagos Activados Clásicos (M1) o pro-inflamatorios, con propiedades anti-microbianas, y los Activados Alternativos (M2) o anti-inflamatorios, que ejercen un papel muy importante en los procesos de cicatrización y generación de fibrosis (20). Aunque el origen de los macrófagos asociados a los tumores (TAMs) no está claro aún, ambos tipos de macrófagos residentes o inflamatorios pueden diferenciarse a TAMs, adquiriendo propiedades inmunosupresoras (21).

Se han descrito además otras subpoblaciones de monocitos como los Ly6C+ Gr-1+ que migran a las mucosas y participan en la inmunidad frente a protozoos, o la subpoblación Ly6C- CD115+ Gr1+ que patrulla los vasos sanguíneos (22-24). Los procesos de diferenciación mieloide poseen gran plasticidad; así, se ha observado en situaciones de infección e inflamación, la migración de los monocitos a los sitios de inflamación y su diferenciación a DCs (25). Sin embargo, en otras situaciones como en respuestas de daño isquémico miocárdico, los monocitos pueden ejercer un efecto anti-inflamatorio. [Los monocitos Ly6C+ pueden ser movilizados desde la médula ósea hacia los tejidos inflamados por un mecanismo dependiente de CCR2, y una vez allí, pueden diferenciarse a DCs productoras de TNF(Tip DCs), macrófagos M1 o DCs inflamatorias.

La ontogenia, desarrollo y homeostasis de las DCs está controlado por el receptor Flt3, de la familia de receptores tirosina quinasa fms-like, que es responsable de la diferenciación de DCs a partir de un precursor CX3CR1+ CD115+ común (CDP) para pDCs y cDCs (26-28). La expresión diferencial de moléculas de adhesión y receptores de migración es esencial para el reclutamiento de los precursores mieloides de macrófagos y DCs a los diferentes tejidos, afín de ejercer allí sus funciones (29).

SUBTIPOS Y FUNCIONES DE CÉLULAS DENDRÍTICAS

El papel de las Células Dendríticas es crítico en el equilibrio inmunogenicidad-tolerancia. Las DCs pueden clasificarse en dos grandes categorías; convencionales (cDCs) y plasmacitoides (pDCs) (30). En primer lugar, las cDCs se han caracterizado por ser, esencialmente, células con gran capacidad presentadora de antígeno y de estimulación de la respuesta de los linfocitos T, con fenotipo CD11c+ CD11b+. La migración de cDCs inmaduras a los tejidos inflamados es dependiente de la expresión de los receptores de quimiocinas CCR2, CCR5 y CCR6. Tras la captura de antígeno en tejidos inflamados o en los sitios de infección, las cDCs maduran, disminuyendo la expresión de estos receptores de quimiocinas y aumentando la de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase

II (MHC-II) y ligandos co-estimuladores CD80 y CD86. Así, aumentan su capacidad presentadora de antígeno. Además, tras su maduración, las cDCs comienzan a expresar el receptor de quimiocinas CCR7, que les permite migrar a los ganglios linfáticos para presentar allí el antígeno a los linfocitos T y así activarlos (29, 31).

Por otra parte, las pDCs, identificadas en ratón como CD11cint B220+ (32), se encuentran en médula ósea, sangre, timo y ganglios, formando parte del mecanismo de defensa inicial frente a las infecciones virales ya que son capaces de producir grandes cantidades de Interferon-alfa tras reconocimiento de ácidos nucleicos virales por sus TLR7 y 9. Además, las pDCs pueden también activar a linfocitos T induciendo respuestas T antígeno específicas, así como a otros componentes del sistema inmune como las células NKs. Existen, sin embargo, evidencias de que las pDCs pueden desempeñar una función importante no sólo en la inmunidad viral, sino también durante la inducción de tolerancia en las enfermedades autoinmunes. Debido a su menor expresión de MHC-II y de moléculas co-estimuladoras que las cDCs, se ha postulado un papel muy relevante para las pDCs en el mantenimiento de la tolerancia frente a antígenos propios. En este sentido, las pDCs inmaduras promueven la diferenciación de los linfocitos T reguladores, integrantes de la respuesta tolerogénica, tanto in vitro como in vivo en modelos de tolerancia de asma alérgica o de trasplantes cardiacos (32, 33)

INTERACCIONES DC-LINFOCITOS T. LA SINAPSIS INMUNE

El intercambio de información entre células, homólogas o heterólogas, es uno de los ejemplos más importantes de la sofisticación de los sistemas nervioso e inmune en vertebrados. La formación de la sinapsis inmunológica, a diferencia de la sinapsis neuronal, es un proceso transitorio. La formación de la sinapsis inmunológica incluye varias etapas secuenciales. En primer lugar, se produce la exploración por parte del linfocito T de la membrana de la célula presentadora de antígeno (APC) que implica a determinadas moléculas de adhesión como la integrina LFA-1 y sus ligandos ICAM-1, e ICAM-3; esta etapa es independiente de antígeno. En segundo lugar, cuando el receptor de los linfocitos T (TCR) reconoce al antígeno presentado por las moléculas MHC de la APC, se inducen señales activadoras y se produce la segregación de los SMACs (Complejos Supramoleculares de Activación). Por último, se lleva a cabo la secreción polarizada guiada por la translocación del centro organizador de microtúbulos (MTOC) (34-37).

Las moléculas implicadas en la formación de la sinapsis inmunológica se reorganizan espacial y temporalmente en la célula T formando una plataforma especializada en la zona de la célula T que está en contacto estrecho con la APC y que permite el diálogo celular. Este reconocimiento específico conlleva que se establezcan de múltiples interacciones concertadas entre parejas de receptores de superficie en ambas células. Una observación detallada al microscopio de la

sinapsis inmune revela la distribución de las moléculas implicadas en el lado del linfocito T en dos anillos concéntricos: un anillo central (cSMAC), donde se agrupan el receptor de las células T (TCR) unido al complejo antígeno-MHC de la célula presentadora; y un anillo periférico de adhesión denominado pSMAC (complejo supra-molecular de activación periférico) donde se concentran los receptores de adhesión celular, entre ellos LFA-1 y su ligando ICAM-1. Esta distribución diferencial es necesaria para la completa activación de la célula T ya que permite la regulación y amplificación espacio-temporal de las rutas de señalización intracelular provenientes del TCR. Este proceso de distribución de receptores es posible gracias a su integración en pequeñas islas en la membrana plasmática que favorecen la formación de agregados así como su interacción con el citoesqueleto celular, que proporciona la plataforma física que sustenta toda la estructura de la sinapsis (38-40). Por otra parte, en la APC, en la zona de contacto con el linfocito T, las moléculas de MHC que presentan el Antígeno y las moléculas de adhesión ICAM-1 y -3 también se disponen congregadas y organizadas, facilitando así su interacción con los receptores en la parte simétrica de la célula T (41). Se ha descrito además, que existen estrictas jerarquías temporales en el reclutamiento de moléculas de señalización a la sinapsis, de forma que se produce una ordenación temporal de las señales. Tanto las cDCs como las pDCs poseen la capacidad de formar sinapsis productivas y completas con los linfocitos T de forma antígeno-específica (42).

Una vez efectuado el reconocimiento entre la célula T y la APC y establecidos los contactos adherentes y antígeno-dependientes, la célula T se activa y pasa a diferenciarse hacia uno de los subtipos de células T, ya sean efectoras o colaboradoras (T-helper, Th), que son fundamentales para el desarrollo de la respuesta inmune adquirida (43, 44). Dependiendo del microambiente de citocinas y el tipo de célula APC que los activa, los linfocitos T CD4 pueden dar lugar a: i) Células Th1: que producen grandes cantidades de IFN gamma con el que activan propiedades microbicidas en los macrófagos para así resistir infecciones intracelulares de patógenos facultativos u obligados (ej: bacterias intracelulares). ii) Células Th2: Productoras de citocinas IL-4, -5 y -13 que permiten reclutar otros leucocitos para resistir infecciones por helmintos así como cooperar con los linfocitos B para producir diferentes isotipos de inmunoglobulinas. iii) Células Th17: Productoras de IL-17, que movilizan a fagocitos, neutrófilos, para resistir infecciones por bacilos extracelulares. iv) Células T reguladoras (Treg): algunas células T CD4+ son inducidas a producir IL-10, diferenciándose a células Foxp3+ con capacidad de suprimir la función de las demás Th1, Th2 y Th17.

La interfase de contacto entre una célula T y una APC se forma para facilitar la comunicación entre ambas células. Sin embargo, se desconoce por qué las moléculas se reordenan formando los SMACs característicos de la Sinapsis

Inmunológica madura. Una posibilidad es que la formación y maduración de los SMACs faciliten la activación secuencial del linfocito T mediante el agrupamiento selectivo de moléculas de superficie, así como el cese y la terminación adecuada de la señal de activación. Además, este reagrupamiento de moléculas de la célula T en SMACs supone la formación de un área especializada para que vesículas cargadas de mediadores se anclen y sean secretadas a la zona de contacto con la célula presentadora de antígeno. Existen numerosas evidencias que apuntan a que la secreción polarizada es una de las funciones principales de la Sinapsis Inmune (45, 46).

Los mensajes que se transmiten las células inmunes mediante la sinapsis inmunológica pueden ser mensajes de vida o mensajes de muerte. Así, las señales que recibe, desde un linfocito T colaborador, una APC, tipo Célula Dendrítica o linfocito B, favorecen su supervivencia y permiten que una célula específica, que está transmitiendo mensajes sobre antígenos presentes en el organismo permanezca más tiempo activa, de modo que cumpla su función comunicadora con mayor eficiencia. Estas señales implican tanto la proliferación y activación como la secreción y transferencia de citocinas y factores de crecimiento y supervivencia (45-48). Por el contrario, las señales que emite un linfocito T citotóxico a una célula infectada por un virus o bacteria o a una célula tumoral, son inductoras de muerte, que ponen en marcha programas de muerte celular, como la apoptosis (46).

TERAPIAS BASADAS EN LA INMUNOMODULACIÓN POR CÉLULAS DENDRÍTICAS DE LA RESPUESTA INMUNE

El potencial de las DCs es indudable en protocolos de vacunación, así como en nuevas terapias de inmunopotenciación frente a tumores. El uso de Células Dendríticas, estimuladas y expandidas in vitro, o bien combinadas con otras terapias más convencionales, es un área emergente y en expansión en medicina.

Actualmente, se está intentado desarrollar nuevas terapias para producir vacunas contra el cáncer que permitan mejorar los tratamientos actuales. Por ejemplo, existen ensayos con distintos adyuvantes que son inyectados en la zona lesionada por el tumor para aumentar su inmunogenicidad. Además se están poniendo a punto sistemas que incluyen la administración sistémica o local de células dendríticas que reaccionan frente al tumor, o agentes que causan la depleción o eliminación de células T reguladoras. También se ha estudiado el efecto de fármacos que eliminan células mieloides supresoras en el área del tumor. Estos tipos de inmunoterapias intentan coordinar la comunicación entre células del sistema inmune, de modo que sean capaces de reconocer y hacer desaparecer el tumor, igual que ocurre frente a determinados virus o bacterias para los que existen vacunas efectivas (49).

Conseguir vacunas efectivas frente a determinados procesos como el cáncer, implica poder modular el sistema inmune adaptativo de modo que sea más inmunogénico y menos tolerogénico. Igualmente, se está estudiando el posible uso de poblaciones de Células Dendríticas con potencial tolerogénico, es decir, capaces de mantener inactivo al sistema inmune, para combatir procesos donde el sistema inmune se activa de forma no deseada, dando lugar a una patología como es el caso de las enfermedades autoinmunes, alergias y trasplantes de órganos (50, 51).

REFERENCIAS

1. Janeway, C.; Evolution and revolution in immunology. Cold Spring Harbor Symp Quant Biol. 1989, 54, 1-13.
2. Matzinger, P.; Tolerance, danger and the extended family. Annu Rev Immunol. 1994, 12, 991-1045.
3. Anderson, K.V.; Bokla, L.; Nüsslein-Volhard, C.; Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: the induction of polarity by the Toll gene product. Cell. 1985, 42, 791-798.
4. Steiner, H.; Hultmark, D.; Engström, A.; Bennich, H.; Boman, H.G.; Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. Nature. 1981, 292, 246-248.
5. Lemaitre, B.; Nicolas, E.; Michaut, L.; Reichhart, J.M.; Hoffmann, J.A.; The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle*/Toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. Cell. 1996, 86, 973-983.
6. Hoffmann, J.A.; Reichhart, J.M. *Drosophila* innate immunity: an evolutionary perspective. Nat Immunol. 2002, 3, 121-126.
7. Medzhitov, R.; Preston-Hurlburt, P.; Janeway, C.A. Jr. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. Nature. 1997, 388, 394-397.
8. Hoffmann, J.A.; Kafatos, F.C.; Janeway, C.A.; Ezekowitz, R.A.; Phylogenetic perspectives in innate immunity. Science. 1999, 284, 1313-1318.
9. Gay, N.J.; Keith, F.J.; *Drosophila* Toll and IL-1 receptor. Nature. 1991, 351, 355-356.
10. Poltorak, A.; He, X.; Smirnova, I.; Liu, M.Y.; Van Huffel, C.; Du, X.; Birdwell, D.; Alejos, E.; Silva, M.; Galanos, C.; Freudenberg, M.; Ricciardi-Castagnoli, P.; Layton, B.; Beutler, B.; Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene. Science, 1998, 282, 2085-2088.
11. Beutler, B.A.; TLRs and innate immunity. Blood. 2009, 113, 1399-1407.
12. da Silva Correia, J.; Soldau, K.; Christen, U.; Tobias, P.S.; Ulevitch, R.J.; Lipopolysaccharide is in close proximity to each of the proteins in its membrane receptor complex. transfer from CD14 to TLR4 and MD-2. J Biol Chem. 2001, 276, 21129-21135.
13. Heguy, A.; Baldari, C.T.; Macchia, G.; Telford, J.L.; Melli, M.; Amino acids conserved in interleukin-1 receptors (IL-1Rs) and the *Drosophila* toll protein are essential for IL-1R signal transduction. J Biol Chem. 1992, 267, 2605-2609.
14. Muzio, M.; Ni, J.; Feng, P.; Dixit, V.M.; IRAK (Pelle) family member IRAK-2 and MyD88 as proximal mediators of IL-1 signaling. Science. 1997, 278, 1612-1615.
15. Muzio, M.; Natoli, G.; Saccani, S.; Levrero, M.; Mantovani, A.; The human toll signaling pathway: divergence of nuclear factor kappaB and JNK/SAPK activation upstream of tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6). J Exp Med. 1998, 187, 2097-2101.
16. Takeuchi, O.; Akira, S.; Pattern recognition receptors and inflammation. Cell. 2010, 140, 805-820.

17. Seimon, T.A.; Nadolski, M.J.; Liao, X.; Magallon, J.; Nguyen, M.; Feric, N.T.; Koschinsky, M.L.; Harkewicz, R.; Witztum, J.L.; Tsimikas, S.; Golenbock, D.; Moore, K.J.; Tabas, I.; Atherogenic lipids and lipoproteins trigger CD36-TLR2-dependent apoptosis in macrophages undergoing endoplasmic reticulum stress. *Cell Metab.* 2010, 12, 467-482.
18. Cole, J.E.; Navin, T.J.; Cross, A.J.; Goddard, M.E.; Alexopoulou, L.; Mitra, A.T.; Davies, A.H.; Flavell, R.A.; Feldmann, M.; Monaco, C.; Unexpected protective role for Toll-like receptor 3 in the arterial wall. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011, 108, 2372-2377.
19. Steinman, R.M.; Cohn, Z.A.; Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J. Exp. Med.* 1973, 137, 1142-1162.
20. Geissmann, F.; Gordon, S.; Hume, D.A.; Mowat, A.M.; Randolph, G.J.; Unravelling mononuclear phagocyte heterogeneity. *Nat Rev Immunol.* 2010, 10, 453-460.
21. Auffray, C., Sieweke, M.H.; Geissmann, F.; Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells. *Annu Rev Immunol.* 2009, 27, 669-692.
22. Swirski, F.K.; Nahrendorf, M.; Etzrodt, M.; Wildgruber, M.; Cortez-Retamozo, V.; Panizzi, P.; et al.; Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites. *Science.* 2009, 325, 612-616.
23. Dunay, I.R.; Damatta, R.A.; Fux, B.; Presti, R.; Greco, S.; Colonna, M.; et al. Gr1(β) inflammatory monocytes are required for mucosal resistance to the pathogen *Toxoplasma gondii*. *Immunity.* 2008, 29, 306-317.
24. Auffray, C.; Fogg, D.; Garfa, M.; Elain, G.; Join-Lambert, O.; Kayal, S.; et al.; Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior. *Science.* 2007, 317, 666-670.
25. Shi, C.; Pamer, E.G.; Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 2011, 11, 762-774.
26. Liu, K.; Victora, G.D.; Schwickert, T.A.; Guermonprez, P.; Meredith, M.M.; Yao, K. et al.; In vivo analysis of dendritic cell development and homeostasis. *Science.* 2009, 324, 392-397.
27. Auffray, C. ; Fogg, D.K. ; Narni-Mancinelli, E. ; Senechal, B. ; Trouillet, C.; Saederup, N. et al. ; CX3CR1^β CD115^β CD135^β common macrophage/DC precursors and the role of CX3CR1 in their response to inflammation. *J Exp Med.* 2009, 206, 595-606.
28. Darrasse-Jeze, G.; Deroubaix, S.; Mouquet, H., Victora, G.D.; Eisenreich, T.; Yao, K.H. et al.; Feedback control of regulatory T cell homeostasis by dendritic cells in vivo. *J Exp Med.* 2009, 206:1853-1862.
29. Alvarez, D.; Vollmann, E.H.; von Andrian, U.H.; Mechanisms and consequences of dendritic cell migration. *Immunity.* 2008, 29, 325-342.
30. Steinman, R.M.; Banchereau, J.; Taking dendritic cells into medicine. *Nature.* 2007, 449, 419-426.
31. Barreiro, O.; Martín, P.; González-Amaro, R.; Sánchez-Madrid, F.; Molecular cues guiding inflammatory responses. *Cardiovasc Res.* 2010, 86, 174-182.
32. Martín, P.; Del Hoyo, G.M.; Anjuère, F.; Arias, C.F.; Vargas, H.H.; Fernández-L, A.; Parrillas, V.; Ardavín, C.; Characterization of a new subpopulation of mouse CD8α⁺ B220⁺ dendritic cells endowed with type 1 interferon production capacity and tolerogenic potential. *Blood.* 2002, 100, 383-390.
32. Lambrecht, B.N.; Hammad, H.; Biology of lung dendritic cells at the origin of asthma. *Immunity,* 2009, 31, 412-424.
33. Ochando, J.C.; Homma, C.; Yang, Y.; Hidalgo, A.; Garin, A.; Tacke, F.; et al.; Alloantigenpresenting plasmacytoid dendritic cells mediate tolerance to vascularized grafts. *Nat Immunol.* 2006, 7, 652-662.
34. Monks, C.R.; Freiberg, B.A.; Kupfer, H.; Sciaky, N.; Kupfer, A.; Three-dimensional segregation of supramolecular activation clusters in T cells. *Nature.* 1998, 39582-39586.

35. Fooksman ,D.R.; Vardhana, S.; Vasiliver-Shamis, G.; Liese, J.; Blair, D.A.; Waite, J.; Sacristán, C.; Victora, G.D.; Zanin-Zhorov, A.; Dustin, M.L.; Functional anatomy of T cell activation and synapse formation. *Annu Rev Immunol.* 2010, 28, 79-105.
36. Montoya, M.C.; Sancho, D.; Vicente-Manzanares, M.; Sánchez-Madrid, F.; Cell adhesion and polarity during immune interactions. *Immunol. Rev.* 2002, 186, 68-82.
37. Martín-Cófreces, N.B.; Robles-Valero, J.; Cabrero, J.R.; Mittelbrunn, M.; Gordón-Alonso, M.; Sung, C.H.; Alarcón, B.; Vázquez, J.; Sánchez-Madrid, F.; MTOC translocation modulates IS formation and controls sustained T cell signaling. *J Cell Biol.* 2008, 182, 951-962.
38. Sánchez-Madrid, F.; del Pozo, M.A.; Leukocyte polarization in cell migration and immune interactions. *EMBO J.* 1999, 18, 501-511.
39. Billadeau, D.D.; Nolz, J.C.; Gomez, T.S.; Regulation of T-cell activation by the cytoskeleton. *Nat Rev Immunol.* 2007, 7, 131-143.
40. Vicente-Manzanares, M.; Sánchez-Madrid, F.; Role of the cytoskeleton during leukocyte responses. *Nature Rev. Immunol.* 2004, 4, 110-122.
41. de la Fuente, H.; Mittelbrunn, M.; Sánchez-Martín, L.; Vicente-Manzanares, M.; Lamana, A.; Pardi, R.; Cabañas, C.; Sánchez-Madrid, F.; Synaptic clusters of MHC class II molecules induced on DCs by adhesion molecule-mediated initial T-cell scanning. *Mol Biol Cell.* 2005, 16, 3314-3322.
42. Mittelbrunn, M.; Martínez del Hoyo, G.; López-Bravo, M.; Martín-Cofreces, N.B.; Scholer, A.; Hugues, S.; Fetler, L.; Amigorena, S.; Ardavin, C.; Sánchez-Madrid, F.; Imaging of plasmacytoid dendritic cell interactions with T cells. *Blood.* 2009, 113, 75-84.
43. Zhu, J.; Paul, W.E.; CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood.* 2008, 112, 1557-1569.
44. O'Shea, J.J.; Paul, W.E.; Mechanisms underlying lineage commitment and plasticity of helper CD4+ T cells. *Science.* 2010, 327, 1098-1102.
45. Huse, M.; Quann, E.J.; Davis, M.M.; Shouts, whispers and the kiss of death: directional secretion in T cells. *Nat Immunol.* 2008, 9, 1105-11.
46. Stinchcombe, J.C.; Griffiths, G.M.; Secretory mechanisms in cell-mediated cytotoxicity. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2007, 23, 495-517.
47. Mittelbrunn, M.; Gutierrez-Vazquez, C.; Villarroya-Beltri, C.; Gonzalez, S.; Sanchez-Cabo, F.; Gonzalez, M.A.; Bernad, A.; Sanchez-Madrid, F.; Unidirectional transfer of microRNA-loaded exosomes from T cells to antigen-presenting cells. *Nat Commun.* 2011, 2, 282.
48. Riol-Blanco, L.; Delgado-Martin, C.; Sanchez-Sanchez, N.; Alonso, C.L.; Gutierrez-Lopez, M.D.; Del Hoyo, G.M.; Navarro, J.; Sanchez-Madrid, F.; Cabanas, C.; Sanchez-Mateos, P.; Rodriguez-Fernandez, J.L.; Immunological synapse formation inhibits, via NF-kappaB and FOXO1, the apoptosis of dendritic cells. *Nat Immunol.* 2009, 10, 753-760.
49. Perez-Gracia, J.L.; Berraondo, P.; Martínez-Forero, J.; Alfaro, C.; Suarez, N.; Gurrpide, A.; Sangro, B.; Hervas-Stubbs, S.; Ochoa, C.; Melero, J.A.; Melero, I. Clinical development of combination strategies in immunotherapy: are we ready for more than one investigational product in an early clinical trial? *Immunotherapy.* 2009, 1, 845-853.
50. Maldonado, R.A.; von Andrian, U.H.; How tolerogenic dendritic cells induce regulatory T cells. *Adv Immunol.* 2010, 108, 111-65.
51. Manicassamy, S.; Pulendran, B.; Dendritic cell control of tolerogenic responses. *Immunol Rev.* 2011, 241, 206-227.