

RECIBIDO EL 22 DE ABRIL DE 2020 - ACEPTADO EL 24 DE JULIO DE 2020

# SOBRE EL MODELADO MATEMÁTICO DE LA RED BIOQUÍMICA QUE DESCRIBE LA INTERACCIÓN MOLECULAR ENTRE RECEPTORES CELULARES DE CÉLULAS DENTRÍICAS Y EL LIGANDO MANOSA DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

## ON MATHEMATICAL MODELING OF A BIOCHEMICAL NETWORK DESCRIBING THE MOLECULAR INTERACTION BETWEEN DENDRITIC CELL RECEPTORS AND MANNOSE LIGAND OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

109

**Eduardo Ibarguen Mondragón**

**Edith Mariela Burbano-Rosero**

**Mawency Vergel-Ortega**

Colombia

<sup>1</sup> Departamento de Matemáticas y Estadística, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. Correo: edbargun@udenar.edu.co Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-6308-1344>

<sup>2</sup> Departamento de Biología, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. Correo: marielaburbano@udenar.edu.co Orcid: [orcid.org/0000-0002-4021-2660](https://orcid.org/0000-0002-4021-2660)

<sup>3</sup> Mawency Vergel-Ortega, Departamento de Matemáticas y Estadística, Universidad Francisco de Paula Santander, Norte de Santander, Cúcuta, Colombia, correo: mawencyvergel@ufps.edu.co Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-8285-2968>

### RESUMEN

A nivel mundial se considera a la tuberculosis (TB) como una enfermedad de gran importancia en la salud pública con grandes impactos socioeconómicos, presentando elevadas tasas de incidencia y mortalidad. El modelamiento matemático en el complejo CD-Mtb (Células

dentríicas-*Mycobacterium tuberculosis*) ha sido poco estudiado, lo que representa un problema de investigación que se puede abordar con los avances actuales sobre el modelamiento en escalas moleculares, siendo “el modelo receptor-ligando con representación de estados” el más recomendado para abordar esta dinámica. Adicionalmente, la importancia de estudios en este campo radica en la predicción que permitiría efectuar la modelación en asociación al desarrollo de un estadio de Tb activa o latente. Teniendo en cuenta lo anterior, en esta investigación se enfocó en determinar los principales receptores que se acoplan con el ligando manosa en el proceso molecular de reconocimiento, además de formular a partir de la literatura disponible, una red bioquímica que acople la interacción molecular entre las células dendríticas y el patógeno Mtb en las vías de señalización que implican el reconocimiento de la manosa por los receptores de células dendríticas (DC-SIGN, TLR4, de TLR9, TLR2, MR, Dectin-2, Mincle, FcRy, Dectin-1, SIGNR-3, CR3, SR, Langerin). Se espera que a partir de esta red se desarrollen modelos matemáticos mediante sistemas de ecuaciones diferenciales, esta modelación permitirá manipular variables y parámetros, con el propósito de contestar preguntas acerca de las posibles interacciones mediadas entre doce receptores celulares y el ligando manosa.

**PALABRAS CLAVE:** Tuberculosis, Células dendríticas, *Mycobacterium tuberculosis*, ligandos, receptores, modelado matemático

## ABSTRACT

At global level, tuberculosis (TB) is considered a disease of great importance in public health with high incidence and mortality rates. Mathematical modeling in the CD-Mtb complex (Dendritic cells-*Mycobacterium tuberculosis*) has not been studied a lots, above represents a research problem that can be addressed with current advances on modeling at molecular scales, being

“the receptor-ligand model with representation of states” the most recommended to address binding dynamics. Additionally, the importance of studies in this field lies in the prediction that would allow modeling in association with the development of an active or latent TB stage. Taking into account the above, this research focused on determining the main receptors that are coupled with the mannose ligand in the molecular recognition process, in addition to formulating, based on the available literature, a biochemical network that couples the molecular interaction between the dendritic cells and the pathogen Mtb in the signaling pathways involving recognition of mannose by dendritic cell receptors (DC-SIGN, TLR4, de TLR9, TLR2, MR, Dectin-2, Mincle, FcRy, Dectin-1, SIGNR-3, CR3, SR, Langerin). It is expected that from this network, mathematical models will be developed through systems of differential equations. This modeling will allow the manipulation of variables and parameters, in order to answer questions about the possible interactions mediated between twelve cell receptors and the mannose ligand.

**KEYWORDS:** Tuberculosis, Dendritic cells, *Mycobacterium tuberculosis*, ligands, receptors, mathematical modeling

## INTRODUCCIÓN

La tuberculosis pulmonar (TB) es causada por el *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Se estima que una de cada tres personas está contagiada con el Mtb (Behler et al. 2015). La Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta que en los últimos años se ha venido ganando la lucha contra la TB, gracias su la estrategia “ End TB” la mortalidad debido a la TB se redujo a 1.1 millones en el 2019. Sin embargo, la resistencia de la TB ha venido incrementando sistemáticamente (WHO Global report, 2020). El proceso de contagio es relativamente simple, microgotas con el Mtb suspendidas en el aire son inhaladas, estas se transportan por medio de las vías respiratorias hasta llegar al pulmón

en donde son fagocitados principalmente por macrófagos alveolares (WHO Global Report 2015).

La respuesta inmune contra Mtb es multifactorial e involucra un conjunto de respuestas inmunes innatas y adaptativas. Es preponderante el desarrollo de herramientas para combatir la TB, en este sentido se necesitan obtener avances en la caracterización de la respuesta inmune, en la comprensión clara de la dinámica y su respuesta inmune (Minret A., 2012).

Entre el 5% y el 10% de estos individuos pueden llegar a desarrollar completamente la enfermedad (Mortellaro et al, 2009; Ibarguen et al, 2011; Ibarguen y Esteva, 2014); diferenciando de esta forma dos estadios clínicos, el primero es el denominado TB activa donde el patógeno realiza una replicación normal y se presenta la sintomatología pulmonar y extra-pulmonar, por el contrario en un segundo escenario denominado TB latente, la bacteria se la encuentra en estado no replicativo o dormante, considerándose una enfermedad asintomática (Wigginton y Kirschner, 2001).

El problema de la infección radica principalmente en la multiresistencia de la bacteria frente a los antibióticos, la recurrencia de la enfermedad y la baja o tardía atención médica en los puntos donde se da el brote, razón por la cual se prevén estadísticas de orden creciente para los siguientes años, estimándose cerca de 36 millones de muertes anuales. En este contexto, la TB constituye un foco de interés en investigación con cuestionamientos sobre el entendimiento global de la enfermedad, que aporten en el conocimiento de la misma y de esta forma mejorar su prevención y tratamiento (Wigginton y Kirschner, 2001; Mortellaro et al, 2009; Ibarguen et al, 2014).

La inmunología de la TB refleja una dinámica de señalización celular entre el hospedero humano y el bacilo Mtb, que compromete una

respuesta multifactorial por parte de las células del sistema inmunológico (Abel et al, 2002). Las investigaciones reportan que, durante la infección por micobacterias dirigidas hacia el pulmón, se evidencia una migración de las células dendríticas (CD) y macrófagos hacia el foco de infección (Banchereau y Steinman, 1998). Particularmente, en las CD se ha demostrado una endocitosis de antígenos bacteriales que se procesan por las vías de clase I y II (Lewinsohn et al, 2006). Este proceso sucede paralelo a la difusión de CD hacia los ganglios linfáticos, en donde posteriormente se inicia una respuesta inmune adaptativa, esta migración se acopla a un proceso de maduración representado por cambios en el fenotipo y la sobrerregulación de un número de receptores de superficie de membrana de CD (Liu, 2006). En una escala molecular se exhiben tres escenarios en esta interacción CD-Mtb: el reconocimiento de antígenos del bacilo por parte de los receptores de membrana, el procesamiento de los mismos por la vía I o II, y la presentación de estas moléculas mediante el complejo mayor de histocompatibilidad I y II (MCH I - MCH II) a células profesionales como los macrófagos y células T (Lewinsohn et al, 2006; Pérez, 2006).

La interacción celular y molecular del complejo CD-Mtb, en relación con el desarrollo de los estadios de Tb activa o tipo latente, aún no está completamente dilucidada (Banchereau et al, 2000; Balboa et al, 2010). Este aspecto suma su importancia al considerar que en la respuesta dinámica se presentan interacciones con células no-infectadas, del tipo macrófagos foamy, los cuales forman parte de una estructura denominada granuloma (Banchereau et al, 2000). En este sentido, los estudios actuales se han centrado en la interacción de los macrófagos con el patógeno, y han sido abordados desde diferentes enfoques, resaltándose el campo de las matemáticas aplicadas, donde se emplea el modelamiento

matemático como una herramienta que estudia y predice el comportamiento del sistema en el que se manifiesta la Tb (Eungdamrong y Lyengar, 2004). Generalmente, en la interacción Mtb y macrófagos, se reportan modelos matemáticos formulados a través de sistemas no lineales de ecuaciones diferenciales ordinarias en donde se asocian poblaciones celulares (Ibarguen-Mondragon et al, 2011), o células y moléculas tales como las citoquinas (Kirschner et al, 2007), no obstante, el vacío es generalizado cuando se asumen procesos de reconocimiento molecular entre los receptores de CD y los ligandos específicos.

## MADURACIÓN DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS

Las CD son denominadas las células presentadoras de antígenos que se comparan a un canal conductor y sensor que alerta y desencadena una respuesta inmune, muestran igualmente una dualidad funcional propia durante su desarrollo, esencial para proporcionar una respuesta que obedece a su maduración celular (Dietrich y Doherty, 2009; Balboa et al, 2010). Las CD inmaduras con elevada proporción de procesos de endocitosis y fagocitosis, residen en los tejidos periféricos especializados, donde pueden ejercer la captura de antígenos produciendo moléculas en diferentes proporciones: alta regulación intracelular de MHC II, CCR1, CCR5, CCR6, CCR7 y baja proporción de CD40, CD54, CD80, CD83, CD86 y CD58. Posteriormente, cuando se realiza la captación de antígenos, las CD migran rápidamente hacia los ganglios linfáticos. Durante esta migración, las CD se someten a un proceso de maduración y una elevada expresión de moléculas inductoras sobre la superficie de la membrana, además de la regulación del MHC II, y baja regulación de CCR1, CCR5, CCR6, CCR7. Igualmente, se da la producción de citoquinas como CCL19, CCL20, CCL21.

Algunas CD inmaduras también expresan moléculas inductoras como CCL18, las cuales atraen a las células T hacia el foco de infección (Balboa et al, 2010; Banchereau et al; 2000; Bansal et al, 2010). Entre otras moléculas se encuentran las interleuquinas IL-12. Por el contrario, en los macrófagos infectados se da la producción de citoquinas anti y pro inflamatorias como IL-10 y TNF-, lo que lleva a pensar que durante la infección por Mtb, los macrófagos y las CD probablemente realizan diferentes funciones (Geijtenbeek et al, 2002). Las CD inmaduras se dirigen a través del torrente sanguíneo de la medula ósea hacia los tejidos linfáticos, donde eventualmente maduran a un morfotipo de células residentes (Buschow et al, 2010). En los focos de infección, las CD emplean quimioquinas en la inflamación local que atraen a otro tipo de células encargadas de la captura de anticuerpos y antígenos. Sin embargo, la literatura reporta diferentes tipos de CD, por lo tanto, la respuesta a las quimioquinas diverge considerablemente. Los antígenos procesados de Mtb en el interior de las CD, se exportan en los tejidos linfoides donde migran las células T esenciales para el control de la enfermedad (Chen et al, 2004; Geijtenbeek et al, 2002).

La interacción molecular comienza principalmente por el reconocimiento del componente de la pared celular de Mtb, lipoarabionomano manosilado (ManLAM) mediante el receptor tipo lectina DC-SIGN en CD inmaduras, las cuales secretan interleuquina 10 (IL-10), provocando efectos inmuno-estimulatorios (Gringhuis et al, 2007). Los tipos de CD mieloides se encargan de fagocitar al patógeno, cuando esto sucede se estimula la migración de CD inmaduras a los tejidos linfáticos donde maduran y pueden degradar los antígenos por la vía del MHC II. Igualmente, se conoce que algunas células CD conducen algunas proteínas y patógenos intactos desde los tejidos periféricos hacia los ganglios linfáticos, donde pueden ser transportados a otras células presentadoras

de antígeno para aumentar la amplitud de la respuesta inmune (Gringhuis et al, 2007)

## RECONOCIMIENTO, PROCESAMIENTO Y PRESENTACIÓN DE ANTÍGENOS

Las células fagocíticas expresan una gama de receptores en la superficie celular que han sido implicados en el reconocimiento de Mtb. Entre estos, los receptores tipo toll (TLR), receptores de manosa (MR), receptores tipo lectina como Mincle y DC-SIGN, FCR, y receptores del complemento, conllevan a la activación de una cascada bioquímica de moléculas mensajeras que se unen a receptores específicos dispersos a través de las células y que pueden desencadenar una vía de activación en cascada (Kleinnijenhuis J et al., 2011).

Dentro del fagolisosoma mycobacterial en CD, se procesan antígenos por medio del proteosoma, dirigiéndose hacia la vía de clase II (HLA-II). Sin embargo, en algunos casos los antígenos del fagolisosoma ingresan al citosol a través de la adquisición fagosomal de la maquinaria de retrotranslocación del retículo endoplasmático, estos antígenos son procesados por el transporte asociado al procesamiento antigénico (TAP) en el lumen fagosomal donde entran en la vía fagosoma retículo endoplasmático, o también denominada vía clase I o HLA-I (Li et al, 2011).

Los receptores TLR4 en las CD son específicos para los componentes LPS, LAM, y peptidoglicano de Mtb (Henderson y Watkins, 1997), en esta interacción se requiere de la presencia de CD14 ya sea como una proteína unida a la membrana o de forma soluble, sin embargo, la activación de las CD por la vía de los TLR4, también sucede de forma independiente a CD14, comprometiendo de esta manera el receptor TLR2. Adicionalmente, los receptores TLR junto con NOD2, presentan acciones sinérgicas involucradas en la producción de citoquinas proinflamatorias (Akira et al, 2001; Chávez, 2007).

Por otra parte, las proteínas de choque térmico (HSP), pertenecientes a la familia proteica Hsp60, -70, -90, se han encontrado como facilitadoras del proceso de presentación antigénica cruzada en CD, en el MHC I hacia las células T. Esta clase de proteínas presentan propiedades adyuvantes en la producción de citoquinas (Chen et al, 2004).

Se ha reportado también interacciones entre receptores, un ejemplo de ello es la señalización de DC-SIGN en convergencia con el receptor TLR. No obstante, la modulación de la expresión proteica de estos receptores, también esta mediada por las fracciones lipídicas de Mtb (Serrano et al, 2007).

## MODELACIÓN MATEMÁTICA

El modelamiento sobre la cinética ligando-receptor dentro del reconocimiento no ha sido muy explorado. Sin embargo, por medio de estos procesos se han verificado propiedades sobre la afinidad entre la unión de los dos factores. Las herramientas más poderosas para estudiar esta dinámica son modelos definidos por medio de sistemas de ecuaciones diferenciales, modelos computacionales y modelos estocásticos. Al respecto, (Tang et al, 2017). Lleva a cabo una revisión sobre el modelado molecular en el cual profundiza sobre los métodos mencionados anteriormente. En este trabajo nos enfocaremos en modelos determinísticos definidos por medio de sistemas de ecuaciones diferenciales ordinarias. Este tipo de modelos se emplean para la descripción de la mayoría de las propiedades dinámicas dentro de un sistema biológico como la proliferación celular, apoptosis, diferenciación y/o crecimiento (Gurevich, 2004).

Existen tres esquemas de la interacción ligando receptor, de la forma no cooperativa, de la forma cooperativa y de la interacción de un ligando con N sitios de unión. Generalmente, los tres modelos pueden ser acoplados en uno solo. El primero y el segundo escenario son los más

comunes y representan respectivamente: la unión básica de un ligando libre con un receptor libre para formar un complejo, en constantes cinéticas de formación y disociación; el segundo escenario se interpreta como la interacción entre el complejo formado y otro ligando con diferentes constantes cinéticas.

Los datos experimentales que se obtienen de la medición de parámetros como la concentración inicial de receptores libres y las constantes de disociación pueden cambiar dependiendo de las condiciones fisiológicas y patológicas. Básicamente, la concentración de receptores puede reflejar la modificación funcional del receptor y el cambio en la constante de disociación refleja alteraciones genéticas en el mismo (Klein et al, 2003; Gurevich, 2004).

En un contexto biológico, para abordar la modelación matemática, se debe considerar a los receptores en equilibrio, sean libres o en complejo sobre la membrana celular, los cuales pueden representarse en diferentes especies con estados oligoméricos como una propiedad intrínseca de la proteína, por ejemplo, dos dímeros que se unen en ausencia/presencia de un ligando para formar un tetrámero a una tasa constante de formación. Por otro lado, existen otras propiedades que deben considerarse para los receptores que se van a estudiar en el modelo (Klotz y Hunston, 1984; Klein et al, 2003; Gurevich, 2004), estas corresponden a:

- Las tasas de internalización de las moléculas en la célula
- Las disposiciones físicas de receptores a la forma de la membrana celular
- Las propiedades fisicoquímicas o de afinidad del ligando al sitio de unión en el receptor
- La tasa de reciclaje de los receptores y su respectivo tráfico al interior de la célula

- La tasa de degradación de los receptores empleados
- La tasa de creación de nuevos receptores

Entre los resultados de la modelación se espera la descripción en el transcurso del tiempo, la unión de receptores y ligandos, en disociación o asociación en un punto de equilibrio. Los datos experimentales que se obtienen pueden medir únicamente la concentración de ligandos unidos que corresponde a la concentración expuesta menos la concentración de ligandos no unidos a los sitios de unión, que pueden ser saturados (específicos) o no saturados (no específicos) (Gurevich, 2004).

La determinación de parámetros depende de las variables que se quieran medir en el modelo, y estas pueden ser analizadas bajo dos métodos, siguiendo el método gráfico de Scatchard, que en muchos casos es limitado debido a los errores experimentales y a que no pueden ser aplicados a los modelos cooperativos y uniones que no están en equilibrio. El otro método es el de regresión, el cual mide las constantes de interacción ligando-receptor. Cualquiera que se escoja tiene limitaciones de aplicación al sistema biológico (Gurevich, 2004).

Anteriormente, los modelos ligando-receptor se basaban en el principio de la saturación de Langmuir. Sin embargo, se ha descubierto nuevos estados reaccionantes que tienen lugar en esta dinámica, estos son referidos en primer lugar al antagonismo en donde se evidencia una consecuencia distinta a la interacción. En segundo lugar, un ligando puede unirse a un receptor sin efecto, es decir, como agonista neutral, pero esta actividad neutral puede utilizarse para bloquear la unión con otro receptor o de otro ligando. Y, en tercer lugar, si el receptor produce una cantidad intrínseca o constitutiva de la actividad, un ligando puede suprimir esta respuesta y funcionar como un agonista inverso.

Un sistema de ecuaciones diferenciales se formula entonces para representar los eventos dependientes del tiempo que resultan de la cinética de acción de masas, la cual argumenta un equilibrio entre la asociación y disociación de los ligandos con los sitios de unión. Los datos experimentales de los parámetros se obtienen en tiempos relativamente largos que se toman para realizar las simulaciones numéricas que permiten determinar los estados de disociación y asociación y por esta razón, las ecuaciones diferenciales representativas se convierten en ecuaciones algebraicas para la condición de un estado estable.

Generalmente, el cambio de estados en la interacción ligando-receptor viene dada por las constantes de disociación, y gráficamente se pueden formular nodos como eventos elementales o complejos, y bordes que comprenden las velocidades de reacción (Chavesa et al., 2004).

1 1 5 Existe un componente que en la mayoría de los modelos matemáticos no se considera, este es referido al reciclaje en el tráfico de receptores. Este reciclaje es referido a la utilización de novo de receptores involucrados en la interacción ligando-receptor, su internalización y degradación tanto en estado vacío u ocupado. Este concepto puede ser abordado mediante un enfoque analítico.

## INTERPRETACIÓN DE MODELOS MATEMÁTICOS

Los fenómenos de unión receptor-ligando están sujetos a la influencia de una variedad de variables extrínsecas, es decir, aspectos del sistema experimental que puede alterarlos, por ejemplo, la temperatura y la composición del medio, incluyendo el pH y las concentraciones de iones pequeños. Esta dinámica de unión es representada por el esquema de reacción reversible simple entre un (R) receptor libre y (L) un ligando libre para formar un complejo

(C) receptor-ligando. En esta interacción molecular intervienen las constantes de velocidad relevantes:  $k_c$  constante de velocidad de asociación y el  $k_r$  constante de velocidad de disociación.

En estas interacciones también intervienen las concentraciones de las especies de los receptores y ligandos, denotados por las unidades: moles / volumen o densidad superficie / célula. Adicionalmente, los principios termodinámicos sugieren que la concentración de ligando se relacione en el equilibrio químico a través de la constante de equilibrio de disociación:  $KD = k_r / k_c$ ; donde un pequeño valor de  $KD$ , que corresponde a un valor grande de la constante de asociación de equilibrio,  $XA = k_c / k_r = 1 / KD$ , indica una alta afinidad del receptor para el ligando.

Para interpretar correctamente la dinámica de interacción molecular, se modela en base de la unión receptor-ligando, donde un ligando monovalente se une reversiblemente a un receptor monovalente para formar un complejo. Utilizando los principios de la cinética de acción de masas, esta interacción puede ser escrita según la ecuación que describe la tasa de tiempo de cambio del receptor-ligando, como una función del número de receptores libres y la concentración del ligando.

La determinación de los parámetros de este modelo, se escriben en primer orden para el equilibrio de unión,  $RT$  y  $KD$ . Hay dos clases principales de métodos de estimación de parámetros, gráficos y numéricos, que pueden ser utilizados para obtener los valores de  $RT$  y  $KD$  a partir de los datos experimentales. Los métodos gráficos, como la representación de Scatchard (Scatchard, 1949), por lo general implican diversas transformaciones lineales de los datos de unión. Por el contrario, una mejor opción es usar métodos numéricos para determinar los parámetros de enlace correspondientes. Esta estimación se realiza

con algoritmos que no requieren la extrapolación como los gráficos de transformación lineales lo hacen. (Munson y Rodbard,1980) ofrecen una de las primeras aplicaciones de este enfoque, y muchos algoritmos informáticos de ajuste de hoy en día están disponibles.

Para el análisis de los modelos matemáticos se pueden realizar por métodos deductivos o métodos inductivos, dentro de los cuales, los primeros constituyen un estudio cualitativo de los fenómenos que caracterizan el comportamiento del sistema; por el contrario, los segundos, constituyen un modelo matemático a partir de medidas realizadas sobre el sistema, es decir una evolución a través del tiempo, mediante una simulación.

La interpretación de los resultados que arroje el análisis constituye una fase de discusión interdisciplinar, para corroborar el comportamiento del sistema con las leyes biológicas que se conoce del mismo. Generalmente, este proceso se acopla con una comparación de resultados con otros estudios relacionados, esto se puede lograr estableciendo particularidades y limitaciones de generalización del sistema dispuesto.

## MÉTODOS

Diseño y técnicas de recolección de información:

La definición de variables y la red bioquímica de interacción entre los receptores celulares y el ligando manosa se realizó con base en lo expuesto en el marco teórico. Los valores de los parámetros se estimaron a partir de datos experimentales publicados en las investigaciones actuales y de frontera. Para la localización de los documentos primarios se utilizaron varias fuentes documentales. La búsqueda bibliográfica automatizada se efectuó durante el desarrollo del proyecto, en la base de datos Science Direct (<http://www.sciencedirect.com/>), Pubmed del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), y los buscadores académicos: Google Scholar (<http://scholar.google.com.co/>) y Google, con las extensión filetype:pdf, la búsqueda se realizó con el filtro de relevancia, extendiéndose a las dos primeras páginas de resultados encontrados, utilizando los descriptores: células dendríticas, receptores de células dendríticas, Mycobacterium tuberculosis, modelación matemática, interacción molecular, publicados en español e inglés. Se empleó como filtro de escogencia un rango de (2000 - 2020). Para evitar contradicciones en la literatura, se tuvo como criterio de selección la referencia más actual del punto de vista en discusión. Estos datos fueron filtrados en referencia a las tasas cinéticas de disociación molecular de las proteínas que intervienen en la interacción.

ni. gov/pubmed), y los buscadores académicos: Google Scholar (<http://scholar.google.com.co/>) y Google, con las extensión filetype:pdf, la búsqueda se realizó con el filtro de relevancia, extendiéndose a las dos primeras páginas de resultados encontrados, utilizando los descriptores: células dendríticas, receptores de células dendríticas, Mycobacterium tuberculosis, modelación matemática, interacción molecular, publicados en español e inglés. Se empleó como filtro de escogencia un rango de (2000 - 2020). Para evitar contradicciones en la literatura, se tuvo como criterio de selección la referencia más actual del punto de vista en discusión. Estos datos fueron filtrados en referencia a las tasas cinéticas de disociación molecular de las proteínas que intervienen en la interacción.

## RESULTADOS

Caracterización de algunas propiedades del comportamiento cualitativo de la interacción molecular de Mycobacterium tuberculosis y células dendríticas

Las CD juegan un importante papel tanto en la inmunidad innata como en la adaptativa, siendo las células presentadoras de antígeno más potentes que existen y con la capacidad única de activar linfocitos T colaboradores que no han tenido contacto antigénico previo. No sólo son importantes en la regulación de respuestas inmunógenas efectivas, sino también en la inducción de fenómenos de tolerancia inmunológica, necesarios para evitar la aparición de procesos autoinmunes. Tras la captación y procesamiento de los antígenos, las CD se dirigen principalmente a los órganos linfoides, donde se produce la presentación de antígenos a los linfocitos T, proceso en el cual no sólo es necesaria la interacción del CMH-II con el receptor de linfocitos T sino también la interacción de otras moléculas accesorias como las moléculas coestimuladoras y las moléculas de adhesión.

Los receptores de linfocitos T (TCR - T cell receptor) son incapaces de reconocer antígenos intactos (como hacen los linfocitos B), por lo que necesitan que el antígeno sea procesado por una CPA y que ésta lo presente en su superficie como fragmentos unidos al CMH. Existen 2 tipos de moléculas CMH, denominadas CMH tipo I y tipo II. La primera se expresa en la mayoría de las células nucleadas, que van a presentar antígenos intracelulares a los linfocitos T citotóxicos (CTL o CD8+), como es el caso de las nuevas proteínas sintetizadas en las células infectadas por virus. Una vez activados, los linfocitos T citotóxicos pueden destruir directamente la célula diana.

Las moléculas CMH tipo II, sin embargo, se localizan principalmente en linfocitos B, macrófagos y células dendríticas, que son responsables de la presentación a linfocitos T colaboradores (Th o CD4+) de antígenos extracelulares que han sido captados por la CPA mediante fagocitosis o por endocitosis mediada por receptores. Estos linfocitos T CD4+, al activarse se transforman en potentes reguladores de la respuesta inmune (Minhret et al., 2012). Las CD presentan una particularidad ausente en los macrófagos denominada presentación cruzada mediante la cual, antígenos no replicativos, normalmente procesados por la vía exógena y presentados en el contexto de moléculas CMH-II, son presentados por moléculas CMH-I con la consiguiente inducción de respuestas de linfocitos T CD8+ (Beltz et al, 2002).

Las CD son células de una gran plasticidad funcional y se caracterizan por su diferente localización en el organismo, su estado de madurez y su origen. En este último aspecto, cabe destacar las importantes diferencias funcionales entre las células dendríticas foliculares (CDF) de origen estromal y las clásicas CD de origen hematopoyético, que van a derivar a su vez de progenitores mieloides o linfoides y que van a clasificarse de manera distinta según la especie estudiada (Behler et al, 2015).

La mayoría de las células nucleadas del organismo pueden actuar como CPA por su capacidad de presentar antígenos a linfocitos T CD8+ por medio de las moléculas CMH-I; sin embargo, este término es a menudo utilizado para referirse únicamente a las células capaces de presentar antígenos a los linfocitos T CD4, es decir, las que expresan CMH-II. Existen células que en determinadas ocasiones pueden activarse y expresar CMH-II, como es el caso de algunas células epiteliales (endotelio vascular, epiteliales del timo), siendo por tanto consideradas como CPA no profesionales.

Por otro lado, las CPA que expresan CMH-II mejor definidas son las CD, los fagocitos mononucleares y los linfocitos B, también denominadas "CPA profesionales", siendo su capacidad fagocítica y procesadora de antígenos muy superior a la de cualquier otro tipo celular. Dentro de estas últimas, los macrófagos y linfocitos B presentan antígenos a linfocitos T colaboradores activos, es decir, linfocitos que han tenido un contacto previo con el antígeno. Las CD en cambio, además de presentar antígenos a linfocitos T colaboradores activos, tienen la habilidad única de inducir respuestas inmunes primarias mediante la activación de linfocitos T vírgenes.

Las CD expresan además una cantidad de complejos CMH-II-péptido muy superior a la expresada por linfocitos B o monocitos, siendo las CPA más potentes de todo el sistema inmune (Guery et al, 1995; Inaba et al, 1997).

### **Circulación de las CDs e interacción con los linfocitos T**

Las CD tienen su origen en la médula ósea, donde las células madre se diferencian y migran como precursores de CDs hacia la sangre. Desde allí, las CD inmaduras buscan los tejidos en los que actúan como células centinela, vigilando la posible entrada de patógenos invasores, a los cuales capturan, procesándolos en fragmentos

antigénicos (Banchereau et al, 1998). Una vez que se ha capturado el patógeno, la DC inmadura recibe señales de activación, que inician su maduración y migración a los órganos linfoides secundarios donde presentan los antígenos procesados a los linfocitos T vírgenes para la inducción de una respuesta inmune específica frente a esos antígenos. La maduración y la migración de las CD están minuciosamente dirigidas por diversas quimiocinas y moléculas de adhesión (Sallusto et al, 1999; Banchereau et al, 2000).

Una vez en las áreas T de los nódulos linfáticos, las quimiocinas atraen a los linfocitos T vírgenes hacia las CD, permitiendo que se establezca la interacción entre la CD y el linfocito T (Tabla 1). En esta interacción o sinapsis inmunológica intervienen diversas moléculas: En primer lugar, se establece la señal preliminar resultado de la interacción entre la molécula CMH-II de la CD, cargada con el antígeno, y el receptor del linfocito T. Las CD expresan además distintas moléculas coestimuladoras que incluyen miembros de la familia B7 como CD80 (B7-1) y CD86 (B7-2), que pueden interactuar con CD28 y CD152 (CTLA4) presentes en el linfocito T (Orabona et al, 2004), así como miembros de la familia TNF, como es el caso de CD40, cuyo ligando en el linfocito T es CD154 (Ma DY and Clark, 2009). Esta segunda señal generada por las moléculas coestimuladoras, presentes también en otras CPA (Johnson et al, 1992) es necesaria para la correcta activación de los linfocitos T. Dicho de otro modo, la señal 2 debe acompañar a la señal de inducción para que se produzca inmunidad, ya que la señal 1 en ausencia de coestimulación se asocia con la inducción de tolerancia (Reis e Sousa, 2006). Hay que matizar que esta segunda señal inmunógena es resultado de la interacción con CD28 en el linfocito T, ya que, si se produce con CTLA4, tendrá lugar una inactivación del linfocito, es decir, una respuesta tolerogénica. Existen además interacciones en las que intervienen moléculas de adhesión

intercelular, que proporcionan estabilidad a la unión, como es el caso de CD58 (LFA-3) y CD54 (ICAM-I) presentes en la CD, cuyos correceptores en el linfocito T son LFA-2 y LFA-1, respectivamente. Se han identificado nuevas moléculas de la superficie celular de las CDs que pueden contribuir en su función, como es el caso de las lectinas de tipo C (Figdor et al, 2002), que regulan muchas funciones implicadas en el establecimiento de la inmunidad innata y adaptativa. Algunas de estas moléculas pueden no solo reconocer patógenos sino también regular la interacción celular con los linfocitos T, como es el caso de CD209 (DC-SIGN) (Geijtenbeek et al, 2002).

Tabla 1. Principales moléculas participantes en la interacción entre Células dendríticas y linfocitos T. CD (grupo de diferenciación), CTLA-4 (Antígeno de linfocito T citotóxico- 4), LFA (Antígeno asociado a la función linfocítica), ICAM (Molécula de adhesión intercelular). DC-SIGN (Molécula de adhesión intercelular no asociada a integrina, específica de células dendríticas) (Romero-Palomo et al., 2011).

#### Interacción CD-LT

CD40	CD154 (CD40L)				
CD80 (B7-1)/ CD86 (B7-2)		C	D	2	8
(activación)					
CD80 (B7-1)/ CD86 (B7-2)		C	D	1	5
(CTLA4) Inactivación					
LFA-3 (CD58)	LFA-2 (CD2)				
ICAM-1 (CD54)	LFA-1 (CD11a/CD18)				
DC-SIGN (CD209)	ICAM-3 (CD50)				

### CÉLULAS DENDRÍTICAS E INMUNIDAD INNATA

Las CD son conocidas por el importante papel que juegan enlazando la inmunidad innata y la adaptativa. La respuesta inmune innata

limita la infección y activa a la CPA para desencadenar la inmunidad adaptativa, que incrementa la especificidad y crea memoria inmunológica. Existen varios mecanismos que llevan a la activación innata de las CD, compartiendo todos ellos un nexo de unión con las infecciones (Reis e Sousa et al, 2001). Las células del sistema inmune, incluyendo las CD poseen los denominados receptores de reconocimiento de patrones moleculares (PRR – Pattern recognition receptor) que como su propio nombre indica, reconocen distintos patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP - Pathogen-associated molecular pattern) presentes en virus, bacterias, hongos y protozoos, como pueden ser su material genético, lipopolisacáridos (LPS), etc. Los PRR mejor estudiados son los Receptores de tipo Toll (TLR - Toll-like Receptors), los cuales tienen un importante papel en la biología de las CD (Reis e Sousa, 2004), aunque se ha visto que el repertorio de TLRs entre los tipos de CD no es el mismo entre distintas especies como es el caso de ratones y humanos (Reis e Sousa, 2004). Es posible hacer una distinción entre las distintas vías de activación de CD, que pueden ser dependientes o independientes de los PAMP

La activación dependiente de PAMP puede producirse de manera directa por contacto con PAMP, o bien de manera indirecta mediada por citoquinas producidas por otros tipos celulares que han contactado con el patógeno. La activación independiente de PAMP se produce en respuesta a moléculas propias del organismo o alteraciones del medio interno, como las proteínas de choque. Además de los TLRs, responsables de señalizaciones intracelulares, existen otros PRR incluidos en la familia de lectinas de tipo C (Figdor et al, 2002; Kanazawa, 2007), que están siendo objeto de numerosos estudios debido a su presencia en las CDs (DEC205, langerine, DC-SIGN, BDCA-2, etc.). La activación de las CDs implica que éstas secreten distintas citoquinas proinflamatorias

implicadas en la defensa del hospedador (Moser and Murphy KM, 2001). El mejor ejemplo de ello son las CD plasmacitoides, las cuales son conocidas por ser grandes productoras de INF de tipo 1, de gran importancia en la inmunidad innata frente a los virus (McKenna et al, 2005).

## **CÉLULAS DENDRÍTICAS E INMUNIDAD ADAPTATIVA**

Las CD han demostrado ser de vital importancia no sólo para la inducción de respuestas inmunes primarias (inmunidad innata), sino también para la regulación del tipo de respuesta inmune de linfocitos T, que va a ser específica del antígeno que procesa y presenta. En este sentido, las CD van a desencadenar respuestas de linfocitos T colaboradores de tipo 1 (Th1) y de tipo 2 (Th2)

(Moser and Murphy KM, 2000; Maldonado-López et al, 2001). Existe una señal final para referirse precisamente a estas señales que dan las CD a los linfocitos T para que estos se diferencien en células efectoras como Linfocitos Th1, Th2 o citotóxicos La IL-12 es un ejemplo de mediador que proporciona una señal inductora de linfocitos Th1 o CTL (Trinchieri, 2003).

## **CÉLULAS DENDRÍTICAS Y TOLERANCIA INMUNOLÓGICA**

Las células dendríticas no solo están relacionadas con la activación de linfocitos T para desencadenar respuestas inmunes adaptativas, sino que también están implicadas en la inducción de tolerancia inmunológica (Huang and MacPherson, 2001; Hawiger D, Nussenzweig, 2003), de gran importancia para evitar que el cuerpo produzca un ataque inmune contra antígenos inocuos, incluidos los de los tejidos, células o proteínas del propio organismo. Dependiendo de dónde se produzcan estos fenómenos de tolerancia, hablamos de tolerancia central o de tolerancia periférica. La tolerancia central tiene lugar en el timo, donde se produce no sólo un proceso de

selección positiva de aquellos linfocitos T que no reconocen antígenos propios, sino también un proceso de selección negativa mediado por las CD de la médula, en el que se destruyen aquellos linfocitos T que reconocen complejos CMH-péptidos con alta afinidad. Dado que algunos linfocitos T pueden esquivar el primer proceso de tolerancia, que además existen otros antígenos propios que no están presentes en el timo, o que otros surgen más tarde en la vida, las células dendríticas también participan en los fenómenos de tolerancia periférica que restringen su actividad (Steinman and Nussenzweig, 2002). Estos mecanismos incluyen la muerte, anergia o supresión activa de linfocitos T, para lo cual las CD pueden inducir linfocitos T reguladores (Treg) a nivel periférico (Roncarolo et al., 2001). Fallos en el mantenimiento de la tolerancia inmune pueden conducir a la aparición de enfermedades autoinmunes al igual que un exceso de tolerancia puede crear un ambiente permisivo para agentes infecciosos crónicos, como el VIH.

Tradicionalmente se ha considerado que las CD fenotípicamente inmaduras son las tolerogénicas y que las fenotípicamente maduras son las CD inmunógenas. Sin embargo, observaciones recientes muestran que las CD fenotípicamente maduras no siempre promocionan inmunidad de linfocitos T sino que pueden de hecho inducir tolerancia (Reis e Sousa C, 2002).

Existe mucha controversia acerca de si los distintos tipos de inmunidad son producidos por distintos tipos de CD en respuesta a diferentes PAMP o si una sola subpoblación de CD tiene el potencial suficiente de producir distintas citoquinas dependiendo del estímulo activador (Reis e Sousa, 2001). Parece ser que las subpoblaciones están en cierto modo especializadas para inducir distintos tipos de inmunidad, pero conservando una plasticidad suficiente para ajustar su respuesta a las señales de los patógenos.

## FORMULACIÓN DE LA RED BIOQUÍMICA-INTERACCIÓN RECEPTORES CÉLULAS DENDRÍTICAS Y LIGANDO MANOSA

Una vez que Mtb ingresa al hospedero vía aerosol hacia los alvéolos, son fagocitados por los macrófagos alveolares. En la actualidad se ha identificado que las células dendríticas que residen en la mucosa aérea, principalmente en la submucosa del tracto respiratorio, también interactúan directamente con Mtb, atrapándolos y transportándolos de los sitios primarios de infección hacia los nódulos linfáticos (Guevara-Guzmán et al., 2003).

Las micobacterias tienen en su superficie moléculas altamente glicosiladas tales como los peptidoglicanos unidos a través de puentes fosfodiéster a la arabinogalactana (AG), un polímero de arabinosa y galactosa. Sin embargo, el principal componente de la pared celular es la lipoarabinomanana (LAM) anclado a la membrana celular de la micobacteria y que se extiende a lo largo de la superficie, siendo de gran importancia, ya que se le asocia con la patogénesis de la tuberculosis. Existen diversos receptores en las células dendríticas con los que pueden interactuar estas complejas moléculas glicosiladas. Uno de los menos estudiados es el CD14 que es una proteína de membrana unida a un glicano con fosfatidilinositol. Las células dendríticas (CD) participan en la inducción de la respuesta inmune en respuesta a la infección. No obstante, los mecanismos involucrados no están completamente claros.

Éste puede interactuar con un complejo trimolecular formado con la LAM con unidades de arabinosa en el extremo terminal (AraLAM), unida a una molécula de CD14 soluble. Las dos moléculas a su vez se unen a una proteína soluble análoga al CD14 llamada proteína de unión al LPS (Gorocica et al., 2005). El receptor de manosa (MR) de los macrófagos y células dendríticas reconoce manosa y fucosa sobre la superficie de los patógenos y media

la fagocitosis de diversos microorganismos incluyendo a las micobacterias en presencia o ausencia de opsoninas (Mendelson et al., 2005). Cuando las micobacterias están opsonizadas con proteínas del complemento, la participación del receptor de manosa en la fagocitosis de patógeno es menor que la de los receptores para complemento.

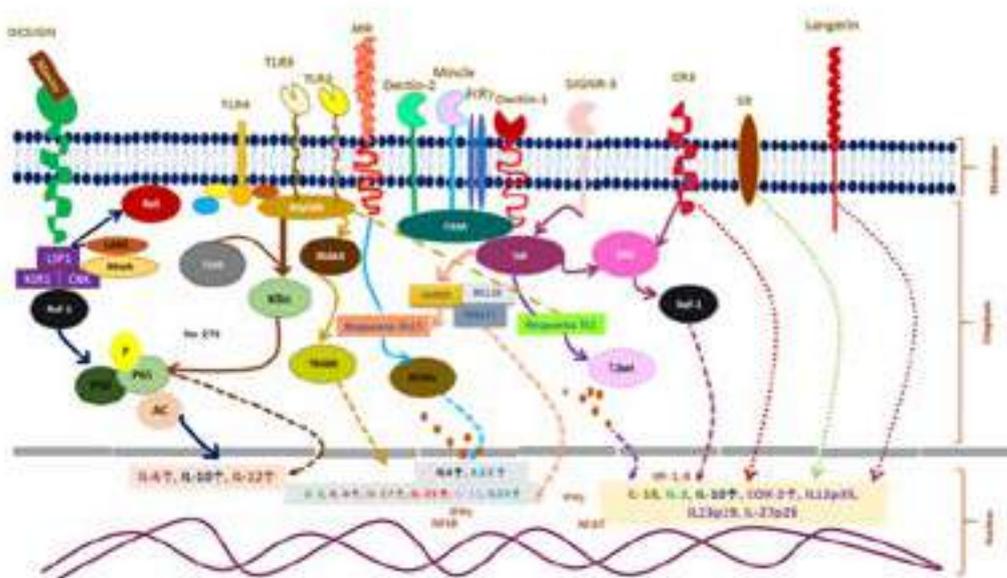
La pared micobacteriana tiene moléculas ricas en manosa en posición terminal como la lipoarabinomanana (ManLAM), el cual es uno de los ligandos para el MR en los macrófagos y células dendríticas. Cuando las células dendríticas entran en contacto con Mtb inician su proceso de maduración y diferenciación (Mitchell et al, 2016).

Aunque las células dendríticas no son los blancos primarios para la infección por micobacterias, su

función específica en la respuesta inmune celular hace que éstas participen como moduladores inmunopatológicos (Mendelson et al, 2005).

Se ha identificado que el receptor de membrana de las células dendríticas tipo lectina C conocido como ICAM-3 (molécula de adhesión intracelular) asociada a células dendríticas (DC-SIGN) interacciona con la lipoarabinomanana (LAM) recubierta con manosa (Man-LAM) de la pared celular de Mtb, uniéndose específicamente a través de residuos diméricos y triméricos de manosa (Tailleux et al., 2003). DC-SIGN es una proteína integral de membrana organizada en una estructura compuesta por cuatro dominios distintos: un dominio citoplásmico N terminal, un dominio transmembranal hidrofóbico, una región alfa helicoidal y una región carboxilo terminal como dominio de reconocimiento (Mendelson et al, 2005).

Figura 1: Red bioquímica de la dinámica receptor-ligando



Entre las funciones de DC-SIGN están: actuar como mediador de las células T/CD a través de las moléculas de adhesión intracelular (ICAM-3) y regular la migración transendotelial por medio de ICAM-2; otro tipo de lectinas tipo C que se expresan en células dendríticas son el receptor de manosa y el DEC205 que actúan como

receptores de reconocimiento de patógenos, por lo que desempeñan un papel importante en la infección por Mtb (Figdor et al, 2002; Geijtenbeek et al, 2003).

Otro tipo de proteínas que reconocen patrones moleculares de asociación a patógenos,

incluyendo Mtb, son los receptores Toll-like (TLR); una familia de 11 proteínas identificadas que hasta ahora sólo se han encontrado en mamíferos (Underhill et al, 2002).

En los últimos años se ha evidenciado que las células dendríticas (CD) juegan un papel fundamental para conectar la respuesta inmune innata con la respuesta inmune adaptativa, a través de su importante rol en la captura, procesamiento y presentación de antígenos. Todavía existen vacíos sobre el resultado de la interacción de Mtb con las CD, y los informes disponibles son contradictorios, ya que algunos hallazgos sugieren que las CD fortalecen la respuesta inmune celular contra la infección por micobacterias mientras que otros informan que *M. tuberculosis* altera la función de las CD cuando las CD infectadas son malos estimuladores de Células T CD4 específicas de Ag de Mtb. Otros estudios mostraron que el resultado depende del tipo de cepa de Mtb y el tipo de receptor en las CD durante el reconocimiento (Mihret A, 2012). En este artículo destacaremos los hallazgos recientes en el resultado de la interacción de Mtb con DC.

Las gotitas de 1 o 2 nm en promedio ingresan al tracto respiratorio inferior evadiendo todas las barreras anatómicas de la nasofaringe y el tracto respiratorio superior (Schluger NW y Rom WN, 1998). Una vez inhaladas, las gotitas pasan por el tracto respiratorio inferior y se depositan en los espacios alveolares y las células fagocíticas, principalmente macrófagos, captan las bacterias, que ayudan a la inducción de una rápida respuesta inflamatoria y acumulación de células. Aunque los macrófagos alveolares son las primeras células en engullir, las células dendríticas y los macrófagos derivados de monocitos también participan en el proceso fagocítico (Henderson et al, 1997). La endocitosis de Mtb involucra múltiples receptores como el receptor del complemento (CR), el receptor Fc (FcR), la proteína tensioactiva A (Sp-A) y sus

receptores, el receptor eliminador de clase A, el receptor tipo Toll (TLR) CD14, los receptores de manosa y la molécula de adhesión intercelular específica de DC-3 que captura la nonintegrina (DC-SIGN) (Ernst, 1998). Algunos receptores permiten la entrada silenciosa (CR) y otros inducen mecanismos de defensa (FcR) (Aderem and Underhill, 1999; Hirsch et al, 1994). El destino intracelular posterior de las micobacterias se considera predeterminado por el modo de entrada en los macrófagos (Kleinnijenhuis J et al., 2011). Sin embargo, los experimentos han demostrado que el tráfico intracelular de Mtb no se alteró significativamente al bloquear los receptores individuales. Una vez que los organismos han llegado a los pulmones, tienen cuatro destinos potenciales. (1) Matanza y eliminación de los bacilos con la respuesta inmune inicial del hospedero, y estos individuos no desarrollan TB debido a este evento de exposición. No es evidente ninguna evidencia clínica o inmunológica de esta interacción. (2) Inmediatamente después de la infección, los bacilos pueden crecer y multiplicarse, causando la enfermedad clínica (TB primaria). (3) Desarrollo de "infección latente" donde los bacilos persisten en una forma subclínica (inactiva). Las bacterias pueden quedarse inactivas o pueden persistir en cantidades bajas, y el sistema inmunológico evita que se reproduzcan sin control y nunca causan enfermedades. Esta fase se manifiesta solo como prueba cutánea de tuberculina positiva (TB latente) o prueba de liberación de interferón gamma positiva. (4) Reactivación de los bacilos latentes o escape de la fase inactiva con la enfermedad resultante (TB de reactivación).

El éxito del Mtb depende de su capacidad para evadir la respuesta inmunitaria, el altera la función de las CD, promoviendo la generación de células que estimulan las células CD4T específicas de antígeno micobacteriano, que son necesarias para controlar esta infección persistente. En un estudio realizado por Balboa y sus colaboradores determinaron los mecanismos por los cuales las

CD derivadas de monocitos que se diferencian en presencia de Mtb (Mtb DC) pueden afectar la proliferación de células T antimicobacterianas específicas. Se encontró que la presencia de Mtb durante la diferenciación de DC derivada de monocitos favorece la polarización de T helper Th2 y Th17, en detrimento de una respuesta Th1, en comparación con DC maduras con Mtb. El sesgo en la polarización de las células T se asoció al perfil de expresión de los receptores de lectina de tipo C que se encuentran en MtbDC (DC-SIGN<sup>low</sup>/MR<sup>low</sup>/Dectin-1<sup>high</sup>). Alternativamente, MtbDC libera antígenos de Mtb (Ag) que pueden ser captados y presentados por DC transeúntes, promoviendo la proliferación de células CD4T, pero en menor grado que la presentación directa por DC maduras con Mtb. Además, han caracterizado la generación de MtbDC como una estrategia de evasión eficaz impulsada por el patógeno, que conduce a la inhibición de la presentación de Ag y al sesgo de la polarización de las células T hacia los perfiles Th2 y Th17, características que explican parcialmente la persistencia de Mtb en el huésped (Balboa et al, 2016).

El reconocimiento de Mtb está mediado por una variedad de receptores expresados en las células inmunes innatas, incluidos los receptores de tipo toll, los receptores del complemento, los receptores de dominio de oligomerización de nucleótidos, los receptores de barrido, los receptores de Fc (por ejemplo, CD14) y los receptores de lectina de tipo C (CLR), como la molécula de adhesión intercelular dendrítica específica de células dendríticas que captura la nonintegrina (DC-SIGN), los receptores de manosa (MR) (Hossain and Norazmi, 2013). La interacción de los ligandos micobacterianos con los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) provoca que los macrófagos y las células dendríticas (DC) secreten citocinas, que a su vez modulan la activación de las células T (Geijtenbeek and Gringhuis, 2009; van Crevel et al, 2002). Dado que el control inmunológico

de la infección persistente con Mtb requiere una respuesta sostenida de las células T CD4 específicas del patógeno, las alteraciones en la generación y el mantenimiento de las células T CD4 protectoras de Mtb son fundamentales para determinar el resultado de la infección. Además, el desarrollo de las células T helper 1 (Th1) es crucial para montar una respuesta inmune adquirida eficaz, dado que el interferón (IFN) - $\gamma$  activa los mecanismos de destrucción de los macrófagos infectados. De hecho, el IFN- $\gamma$  derivado de las células T CD4 es esencial para la supervivencia del huésped y mejora la función de las células T CD8 durante la infección. (Green et al, 2013). En este contexto, las CD juegan un papel decisivo en la orquestación del curso de la respuesta inmune al regular la diferenciación de las células T CD4 en efectores Th, como las células Th1, Th2 y Th17, entre otras. (Harrington et al, 2005; Park et al., 2005; Tato y O'Shea, 2006; Wynn, 2005). Las CD muestran una amplia capacidad de captación de antígeno (Ag) en la periferia. Después de la internalización de Ag, las CD migran al ganglio linfático de drenaje donde presentan péptidos antigénicos, generados por el procesamiento de Ag intracelular, para orquestar la activación de las células T vírgenes. (Savina y Amigorena, 2010; Buckwalter and Albert, 2009). Los procesos de recolección y presentación de Ag a las células T no son necesariamente realizados por la misma célula, sino que pueden realizarse mediante la colaboración entre varios subconjuntos de DC. (Wakim and Bevan, 2011). Dado que las CD dictan la polarización de las células T, es razonable considerar que Mtb puede interferir con la generación de CD y provocar la evasión inmunitaria. En un estudio previo, se demostró que el contacto entre viables (o Mtb irradiados) y monocitos conduce al deterioro de la diferenciación de DC derivadas de monocitos, generando una población celular que se caracteriza por una pobre capacidad para inducir la proliferación de clones T antimicobacterianos específicos. (Balboa et al, 2010). Este

mecanismo de escape se vuelve relevante dado que el principal subconjunto de DC implicado en las infecciones por micobacterias son las DC derivadas de monocitos, también conocidas como DC inflamatorias. (Humphreys et al., 2006; Reljic et al., 2005).

Los bacilos tuberculosos intactos interactúan con TLR2 y TLR4 y posiblemente con otros TLRs. La respuesta inmunológica a una infección hacia un patógeno en particular será determinada por el balance de las interacciones con los receptores TLR y lectinas tipo-C. El TLR2 induce la producción de IL-6 e IL-10 implicadas en la inhibición de la función de los macrófagos y células dendríticas en respuesta al interferón gamma, lo que limita la respuesta inflamatoria y, por lo tanto, ocasiona la progresión de la enfermedad, es decir, TLR2 mediante la producción de IL-10 constituye un importante mecanismo de evasión micobacteriana, lo que aumenta su virulencia.

1 2 4 En cambio, el TLR4 en asociación con la lipoproteína de 19 kDa de Mtb constituye un importante promotor de la respuesta Th1, aumentando la producción de citocinas proinflamatorias (IL-12 y TNF- $\alpha$  entre otras) y facilitando el control y eliminación del bacilo.

En conclusión, la generación de una respuesta inmune protectora dependiente de las células dendríticas a la infección por Mtb estará dada por la combinación de señales de estimulación e inhibición generadas por la interacción del bacilo con los receptores TLR2/TLR4 y las lectinas tipo-C como DC-SIGN (Underhill and Ozinsky, 2002; Jang et al, 2004).

Por otra parte, no debemos olvidar que en las enfermedades infecciosas las características particulares de cada uno de los individuos afectados son capaces de modificar o modular una respuesta inmune. Por ejemplo, las condiciones nutricionales, las enfermedades concomitantes (VIH o el cáncer, entre otros), la

edad, el estado socioeconómico y, sobre todo, el apego que se tenga al tratamiento afectará la resolución o la progresión de la infección. Sin lugar a duda, la combinación de todos estos factores es lo que ha limitado la erradicación de algunas enfermedades, siendo la tuberculosis un claro ejemplo. Aún falta mucho por estudiar y describir de esta enfermedad, que a lo largo de la historia ha ocasionado la muerte de millones de personas en todo el mundo.

Sobre el modelo matemático que interviene en el reconocimiento de Mycobacterium tuberculosis por los receptores de las células dendríticas.

Este trabajo se enfoca en el estudio de la interacción de los receptores DC-SIGN, TLR4, TLR9, TLR2, MR, Dectin-2, Mincle, FcR $\gamma$ , Dectin-1, SIGNR-3, CR3, SR, Langerin de células dendríticas con el ligando manosa de Mtb (Figura 1). Un modelo determinístico para el caso particular de la dinámica ligando-receptor de Mtb en las CD en estado inmaduro, definido por medio de un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias no lineales, basado en la red bioquímica formada por la interacción de la molécula ManLAM del Mtb y los doce receptores de las CD. Debería considerar los siguientes supuestos:

1. Mtb es el agente causal de la TB, la cual posee elevadas tasas de incidencia y prevalencia en países en vía de desarrollo como en Colombia.
2. Las CD son fundamentales en el control de TB, debido a que fagocitan y destruyen a las bacterias modulando el desarrollo de una respuesta inmune.
3. Las CD en estado inmaduro captan antígenos de carácter bacteriano, produciendo cambios metabólicos que se dan a partir de señales de varios receptores que se encuentran en la membrana de las CD y ligandos en las micobacterias.

4. La red bioquímica estructurada por la cinética de acción de masas modela la interacción ligando-receptor por medio de sistemas de ecuaciones diferenciales ordinarias no lineales, tomando como parámetros las constantes de velocidades de reacción.

5. Otras respuestas funcionales que podrían utilizarse para describir la cinética son las ecuaciones de Michaelis-Menten o de Hill.

Se requiere que el análisis cualitativo del modelo sea consistente con las propiedades cinéticas, por estas razones, se debería tomar como punto de partida, la interacción de las proteínas receptores y el ligando manosa de acuerdo a la estructura aproximada en las redes bioquímicas. Adicionalmente, las simulaciones numéricas complementan el análisis de los modelos obtenidos.

A partir del modelado matemático se espera conclusiones relacionadas con:

- a. Los receptores DC-SIGN, TLR4, TLR9, TLR2, MR, Dectin-2, Mincle, FcRy, Dectin-1, SIGNR-3, CR3, SR, Langerin de CD interactúan con el ligando ManLAM de Mtb (Figura 1).
- b. En la interacción molecular de Mtb-CD, caracterizada para los doce receptores y ManLAM, su asociación y disociación en la etapa de reconocimiento de la CD en estado inmaduro, son eventos favorables para Mtb.
- c. El receptor SIGNR-3 es homólogo funcional al receptor tipo lectina DC-SIGN.

(Tailleux et al, 2003) verificó que DC-SIGN es el principal receptor de Mtb en células dendríticas humana. La activación eficaz de los linfocitos T por parte de las CD necesita de varias señales consecutivas. Las CD pueden activar tanto a linfocitos T CD4+ como linfocitos T CD8+ por presentación antigénica vía MHC clase II y MHC clase I, respectivamente, lo que constituiría la primera señal. La segunda señal se realiza por

la interacción con moléculas coestimuladoras presentes en las CDm: CD80 y CD86 con el receptor linfocitario CD28, y la familia TNF con los receptores linfocitarios R-TNF. Si falla esta coestimulación, los linfocitos T se vuelven tolerogénicos. Entonces, las células dendríticas pueden inducir respuesta inmune, pero también pueden inducir tolerancia. Esto depende básicamente de la presencia o ausencia (o bloqueo) de moléculas coestimuladoras, participantes en la activación del linfocito T.

Si no están las moléculas coestimuladoras, la célula dendrítica no activa el linfocito T sino que lo toleriza.

Teniendo en cuenta esto, los principales factores soportados bibliográficamente que pueden afectar la respuesta de las células dendríticas, es la producción y señalización por las citoquinas, principalmente la IL2. El factor que más las afecta a las CDs es la producción anormal de estas moléculas señalizadoras.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Abel B., Thieblemont N., Quesniaux V., Brown N., Mpagi J., Miyake K., Bihl F. and Ryffel B. (2002). Toll-Like Receptor 4 Expression Is Required to Control Chronic Mycobacterium tuberculosis Infection in Mice. *The Journal of Immunology*, 169: 3155-3162
- 2- Akira S., Takeda K. and Kaisho T. (2001). Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nature Immunology*, 2(8): 675 - 680
- 3- Balboa L., Romero M., Yokobori N., Schierloh P., Geffner L., Basile J., Musella R., Abbate E., de la Barrera S., Sasiain M. and Alemán M. (2010). Mycobacterium tuberculosis impairs dendritic cell response by altering CD1b, DC-SIGN and MR profile. *Immunology and Cell Biology*, 88:716-726

- 4- Banchereau J. and Steinman R. (1998). Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*, 392: 245 - 252
- 5- Banchereau J., Briere F., Caux C., Davoust J., Lebecque S., Liu Y., Pulendran B. and Palucka K. (2000). Immunobiology Of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol*, 18:767-811
- 6- Bansal K., Elluru S., Narayana Y., Chaturvedi R., Patil S., Kaveri S., Bayry J. and Balaji K. (2010). PE\_PGRS Antigens of Mycobacterium tuberculosis Induce Maturation and Activation of Human Dendritic Cells. *J. Immunol*, 184:3495-3504
- 7- Buschow S., Lasonder E., van Deutekom H., Oud M., Beltrame L., Huynen M., de Vries I., Figdor C. and Cavalieri D. (2010). Dominant Processes during Human Dendritic Cell Maturation Revealed by Integration of Proteome and Transcriptome at the Pathway Level. *Journal of Proteome Research*, 9:1727-1737
- 8- Chávez D. (2007). Receptores Tipo Toll. *Rev. latinoam. actual. bioméd.*, 1(1): 3-9
- 9- Chavesa M., Sontag E. and Dinerstein R. (2004). Steady-States of Receptor-Ligand Dynamics: A Theoretical Framework. Preprint submitted to Elsevier Science
- 10- Chen K., Lu J., Wang L. and Gan YW. (2004). Mycobacterial heat shock protein 65 enhances antigen cross-presentation in dendritic cells independent of Toll-like receptor 4 signaling. *J. Leukoc. Biol.*, 75: 260 -266
- 11- Dietrich J. and Doherty M. (2009). Interaction of Mycobacterium tuberculosis with the host: consequences for vaccine development. *APMIS*, 117: 440-457
- 12- Eungdamrong N. and Lyengar R. (2004). Modeling Cell Signaling Networks. *Biology of the Cell*, 96: 355-362
- 13- Geijtenbeek T., van Vliet S., Koppel E., Sanchez-Hernandez M., Vandenbroucke-Grauls C., Appelmek B. and van Kooyk Y. (2002). Mycobacteria Target DC-SIGN to Suppress Dendritic Cell Function. *J. Exp. Med.*, 197(1): 7 - 17
- 14- Gringhuis S., Dunnen J., Litjens M., Hof B., van Kooyk Y. and Geijtenbeek T. (2007). C-Type Lectin DC-SIGN Modulates Toll-like Receptor Signaling via Raf-1 Kinase-Dependent Acetylation of Transcription Factor NF-Kb. *Immunity*, 26: 605-616
- 15- Gurevich K. (2004). Application of methods of identifying receptorbinding models and analysis of parameters. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 1:11
- 16- Henderson, R.A. Watkins S.C. and Flynn JL. (1997). Activation of human dendritic cells following infection with Mycobacterium tuberculosis. *The Journal of Immunology*, 159(2) : 635-643.
27. Ibarguen-Mondragon E, Esteva Lourdes, Burbano-Rosero E. (2017). Mathematical model for the growth of mycobacterium tuberculosis in the granuloma. *Mathematical Biosciences and Engineering*, 13 (5), 407-428.
28. Ibarguen-Mondragon E., Esteva L., Chavez-Galán Leslie (2011). A mathematical model for cellular immunology of tuberculosis. *Mathematical Biosciences and Engineering*, 8 (4), 973-986.
29. Ibarguen-Mondragon E., Esteva L. (2014). On the interactions of sensitive and resistant Mycobacterium, *Mathematical Biosciences* 246 (2013) 84–93
30. Ibarguen-Mondragon E., Esteva L. (2014). On CTL response against Mycobacterium tuberculosis, *Applied Mathematical Sciences*, 8 (48), 2383-2389.

31. Kirschner D., Chang S., Riggs T., Perry N. and Linderman J. (2007). Toward a multiscale model of antigen presentation in immunity. *Immunological Reviews*, 216: 93-118
32. Klein P., Mattoon D., Lemmon M. and Schlessinger J. (2003). A structure-based model for ligand binding and dimerization of EGF receptors. *PNAS*, 101(4): 929 - 934
33. Klotz I. and Hunston D. (1984). *Mathematical Models for Ligand-Receptor Binding*. The Journal Of Biological Chemistry, 259(16): 10060 - 10062
34. Lewinsohn D., Grotzke J., Heinzl A., Zhu L., Owendale P., Johnson M. and Alderson M. (2006). Secreted Proteins from Mycobacterium tuberculosis Gain Access to the Cytosolic MHC Class-I Antigen-Processing Pathway. *The Journal of Immunology*, 177: 437- 442
35. Li Q., Singh C., Ma S., Price N. and Jagannath C. (2011). Label-free proteomics and systems biology analysis of mycobacterial phagosomes in dendritic cells and macrophages. *J Proteome Res*, 10(5): 2425-2439
36. Liu, K. (2006). Dendritic Cell, Toll-Like Receptor, and The Immune System. *Journal of Cancer Molecules*, 2(6): 213-215
37. Mortellaro A., Robinson L. and Ricciardi-Castagnoli P. (2009). Spotlight on mycobacteria and dendritic cells: will novel targets to fight tuberculosis emerge?. *EMBO mol. med.*, 1: 19 - 29
38. Pérez M. (2006). Procesamiento y presentación de antígeno por moléculas MHC clase I y clase II. *Rev. Med. Inst. Mex.*, 44(2): 7-10
39. Savina A. and Amigorena S. (2007). Phagocytosis and antigen presentation in dendritic cells. *Immunological Reviews*, 219: 143-156
40. Serrano-Gómez D., Martínez-Nuñez R., Sierra-Filardi E., Izquierdo N., Colmenares M., Pla J., Rivas L., Martínez-Picado J., Jiménez-Barbero J., Alonso-Lebrero J., González S. and Corbí A. (2007). AM3 Modulates Dendritic Cell Pathogen Recognition Capabilities by Targeting DC-SIGN. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(7): 2313-2323
41. Wigginton J. and Kirschner D. (2001). A Model to Predict Cell-Mediated Immune Regulatory Mechanisms During Human Infection with Mycobacterium tuberculosis. *The Journal of Immunology*, 166: 1951-1967
42. Behler, F., Maus, R., Bohling, J., Knippenberg, S., Kirchhof, G., Nagata, M., ... Maus, U. A. (2015). Macrophage-Inducible C-Type Lectin Mincle-Expressing Dendritic Cells Contribute to Control of Splenic Mycobacterium bovis BCG Infection in Mice. *Infection and Immunity*, 83(1), 184–196. <http://doi.org/10.1128/IAI.02500-14> .
43. Mihret, A. (2012). The role of dendritic cells in Mycobacterium tuberculosis infection. *Virulence*, 3(7), 654–659. <http://doi.org/10.4161/viru.22586> .
44. Inaba K, Pack M, Inaba M, Sakuta H, Isdell F, Steinman RM. High levels of a major histocompatibility complex II-self peptide complex on dendritic cells from the T cell areas of lymph nodes. *J. Exp. Med.* 186: 665-72 (1997).
45. Guery JC, Adorini L. Dendritic cells are the most efficient in presenting endogenous naturally processed self-epitopes to class II-restricted T cells. *J. Immunol.* 154: 536-44 (1995).

46. Sallusto F, Lanzavecchia A. Mobilizing dendritic cells for tolerance, priming, and chronic inflammation. *J. Exp. Med.* 189: 611-4 (1999); Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ, Pulendran B, Palucka K. Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 18: 767-811 (2000).
47. Orabona C, Grohmann U, Belladonna ML, Fallarino F, Vacca C, Bianchi R, Bozza S, Volpi C, CD28 induces immunostimulatory signals in dendritic cells via CD80 and CD86, *Nature immunology*, 5 (11), 1134-1142.
48. Ma DY, Clark EA. The role of CD40 and CD154/CD40L in dendritic cells. *Semin. Immunol.* 21:265-72 (2009) .
49. Johnson JG, Jenkins MK. Co-stimulatory functions of antigen-presenting cells. *J. Invest. Dermatol.* 99: 62S-65S (1992).
50. Reis e Sousa C. Dendritic cells in a mature age. *Nat Rev Immunol.* 6: 476-83 (2006).
51. Figdor CG, van Kooyk Y, Adema GJ. C-type lectin receptors on dendritic cells and Langerhans cells. *Nat Rev Immunol.* 2: 77-84 (2002),
52. Geijtenbeek TB, Engering A, Van Kooyk Y. DC-SIGN, a C-type lectin on dendritic cells that unveils many aspects of dendritic cell biology. *J. Leukoc. Biol.* 71: 921-31 (2002).
53. Romero-Palomo, F., Sánchez Cordón, P., Rivalde, M., Pedrera, M., Molina, V., Ruiz-Villamor, E., Gomez-Villamandos, J. (2011). Funciones y clasificación de las células dendríticas. *Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental. Vol (24):* 167-191.
54. Clark GJ, Angel N, Kato M, Lopez JA, MacDonald K, Vuckovic S, Hart DN. The role of dendritic cells in the innate immune system. *Microbes Infect.* 2: 257-72 (2000); -Reis e Sousa C. Activation of dendritic cells: translating innate into adaptive immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 16: 21-5 (2004) .
55. Reis e Sousa C. Dendritic cells as sensors of infection. *Immunity.* 14: 495-8 (2001).
56. Reis e Sousa C. Activation of dendritic cells: translating innate into adaptive immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 16: 21-5 (2004); Reis e Sousa C. Toll-like receptors and dendritic cells: for whom the bug tolls. *Semin. Immunol.* 16: 27-34 (2004).
57. Moser M, Murphy KM. Dendritic cell regulation of TH1-TH2 development. *Nature immunology.*1: 199-205 (2000) .
58. McKenna K, Beignon AS, Bhardwaj N. Plasmacytoid dendritic cells: linking innate and adaptive immunity. *J. Virol.* 79: 17-27 (2005); Diebold SS, Montoya M, Unger H, Alexopoulou L, Roy P, Haswell LE, Al-Shamkhani A, Flavell R, Borrow P, Reis e Sousa C. Viral infection switches non-plasmacytoid dendritic cells into high interferon producers. *Nature.* 424: 324-8 (2003) .
59. Huang FP, MacPherson GG. Continuing education of the immune system--dendritic cells, immune regulation and tolerance. *Curr Mol Med.* 1: 457-68 (2001); Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 21: 685-711 (2003) .
60. Steinman RM, Nussenzweig MC. Avoiding horror autotoxicus: the importance of dendritic cells in peripheral T cell tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99: 351-8 (2002) .
61. Roncarolo MG, Levings MK, Traversari C. Differentiation of T regulatory cells by immature dendritic cells. *J. Exp. Med.* 193: F5-9 (2001)

62. Guevara-Guzmán A, Juárez-Hernández A, Zenteno-Cuevas R. Tuberculosis y la importancia de incorporar nuevas metodologías diagnósticas. *MedUNAB* 2003; 6 (16): 46-51.
63. Gorocica P, Jiménez-Martínez MC, Garfias Y, Sada I, Lascurain R. Componentes glicosilados de la envoltura de *Mycobacterium tuberculosis* que intervienen en la patogénesis de la tuberculosis. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 2005; 18(2): 142-153 .
64. Mendelson M, Hanekom W, Kaplan G. Dendritic cells in host immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. In: Cole St, Eisenach KD, McMurray DN, Jacobs Jr WR. *Tuberculosis and the tubercule bacillus*. Washington, DC, USA: ASM Press, 2005: 451-461 .
65. Mitchell A, Yakus, Jeffrey Driscoll, Allison McAlister, et al., "Molecular and Growth-Based Drug Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis* Complex for Ethambutol Resistance in the United States," *Tuberculosis Research and Treatment*, vol. 2016, Article ID 3404860, 5 pages, 2016. doi:10.1155/2016/3404860.
66. Tailleux L, Schwartz O, Herrmann JL, Pivert E, Jackson M et al. DC-SIGN is the major *Mycobacterium tuberculosis* receptor on human dendritic cells. *J Exp Med* 2003; 197 (1): 121-127.
67. Tang Z, Roberts C, Chang C, Bhardwaj N, (2017), Understanding ligand-receptor non-covalent binding kinetics using molecular modeling, *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2017; 22: 960–981.
68. Underhill DM, Ozinsky A. Toll-like receptors: Key mediators of microbe detection. *Curr Opin Immunol* 2002; 14 (1): 103-110
69. Underhill DM, Ozinsky A, Smith KD, Aderem A. Toll-like receptor- 2 mediates mycobacteria-induced proinflammatory signaling in macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96 (25): 14459-14463;
70. Jang S, Uematsu S, Akira S, Salgame P. IL-6 and IL-10 induction from dendritic cells in response to *Mycobacterium tuberculosis* is predominantly dependent on TLR2-mediated recognition. *J Immunol* 2004; 173 (5): 3392-3397.
71. WHO. *Global Tuberculosis Report 2015*. World Health Organization, Geneva, Switzerland (2015)]
72. WHO. *Global Tuberculosis Report 2020*. World Health Organization, Geneva, Switzerland (2020)]
73. Schluger NW, Rom WN. The host immune response to tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 679-91; PMID:95175762
74. Ernst JD. Macrophage receptors for *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 1998; 66:1277-81; PMID:9529042
75. Maldonado-Lopez R, Moser M. Dendritic cell subsets and the regulation of Th1/Th2 responses. *Semin. Immunol.* 13: 275-82 (2001)
76. Aderem A, Underhill DM. Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu Rev Immunol* 1999; 17:593-623; PMID:10358769; <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.17.1.593>
77. Hirsch CS, Ellner JJ, Russell DG, Rich EA. Complement receptor-mediated uptake and tumor necrosis factor-alpha-mediated growth inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* by human alveolar macrophages. *J Immunol* 1994; 152:743-53; PMID:8283049

78. Kleinnijenhuis J, Oosting M, Joosten LA, Netea MG, Van Crevel R. Innate immune recognition of Mycobacterium tuberculosis. Clin Dev Immunol 2011; 2011:405310; PMID:21603213; <http://dx.doi.org/10.1155/2011/405310>

79. Balboa, Luciana, Kviatcovsky, Denise, Schierloh, Pablo, Garcia, Marina, de la Barrera, Silvia, del Carmen Sasiain, Maria, Monocyte-derived dendritic cells early exposed to Mycobacterium tuberculosis induce an enhanced T helper 17 response and transfer mycobacterial antigens. International Journal of Medical Microbiology <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2016.06.004>].