

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA KEMIJO IN KEMIJSKO TEHNOLOGIJO

## TOLL-U PODOBNI RECEPTORJI

Seminarska naloga pri predmetu Biološke membrane

Mentor: prof. dr. Igor Križaj

Avtorja: Angelika Vižintin in Urban Bezeljak

Ljubljana, januar 2015

## KAZALO VSEBINE

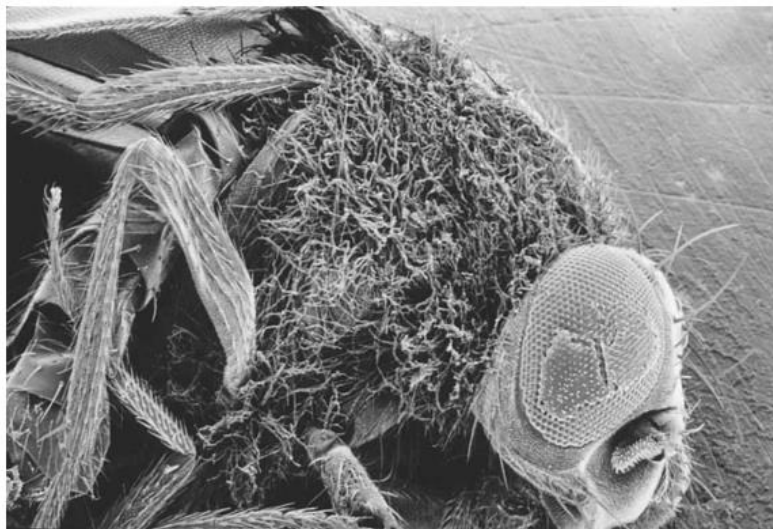
|                                                |    |
|------------------------------------------------|----|
| 1. Uvod.....                                   | 3  |
| 2. Odkritje .....                              | 3  |
| 3. Struktura .....                             | 4  |
| 4. Signaliziranje .....                        | 5  |
| 5. Receptorji na površini celic .....          | 7  |
| 5.1. TLR4.....                                 | 7  |
| 5.2. TLR2, TLR1 in TLR6 .....                  | 7  |
| 5.3. TLR5 in TLR11 .....                       | 8  |
| 6. Receptorji v intracelularnih veziklih ..... | 8  |
| 6.1. TLR3.....                                 | 8  |
| 6.2. TLR7.....                                 | 8  |
| 6.3. TLR8.....                                 | 8  |
| 6.4. TLR9.....                                 | 9  |
| 7. Bolezni, povezane s TLR receptorji.....     | 9  |
| 7.1. Alzheimerjeva bolezen .....               | 9  |
| 7.2. Avtoimunske bolezni .....                 | 9  |
| 7.3. Rak .....                                 | 9  |
| 7.4. Možna vloga pri angiogenezi.....          | 10 |
| 7.5. Vloga pri razvoju ateroskleroze .....     | 10 |
| 7.6. Miokardne bolezni .....                   | 10 |
| 8. Receptorji TLR kot terapevtske tarče .....  | 11 |
| 8.1. Sepsa .....                               | 11 |
| 9. Literatura .....                            | 12 |

## 1. UVOD

V zadnjem desetletju se pozornost raziskav na področju imunologije seli iz komponent pridobljene imunosti na sistem prirojene imunosti, ki za vretenčarje predstavlja prvo obrambno linijo pred okužbami (1). Sedaj postaja jasno, da ohranjene komponente prirojene imunosti usmerjajo odziv pridobljenega imunskega sistema po prvem stiku gostitelja s tujkom. Vdor mikroorganizmov zaznavajo receptorji, ki prepoznavajo vzorce (*angl.* pattern-recognition receptors; PRRs), kot so Toll-u podobni receptorji (receptorji TLR; *angl.* Toll-like receptors; TLRs). Vsak posameznik podeduje zapis za te ohranjene receptorje, ki prepoznavajo kemijsko zelo različne molekulske vzorce, kateri so značilni za patogene (*angl.* pathogen-associated molecular patterns; PAMPs). Vzorci PAMP so značilni za mikroorganizme, tako da jih sistem prirojene imunosti zanesljivo loči od gostiteljskih antigenov. Ti vzorci so pogosto metaboliti ali proteini, ki so nujni za preživetje patogenov, tako je njihova prisotnost jasen signal za okužbo. Po vezavi PAMP na receptorje TLR poteče aktivacija znotrajcelične signalizacijske poti, ki sproži prepisovanje genov pomembnih proteinov, ki sodelujejo pri prirojenem imunskem odzivu na okužbo in vplivajo na nastanek specifične pridobljene imunosti za zaznan antigen (2).

## 2. ODKRITJE

Družina receptorjev Toll je bila odkrita ob preučevanju fenotipov naključnih mutant vinske mušice *D. melanogaster* z genskim presejalnim testom. Raziskovalce v laboratoriju Christiane Nüsslein-Volhard, dobitnice Nobelove nagrade za medicino ali fiziologijo l. 1995, je to odkritje tako navdušilo, da so dobljeni fenotip poimenovali *Toll* (*slov.* super, odlično). Mutacije z izgubo funkcije v identificirani skupini genov so povzročile letalne napake v zgodnjem embrionalnem razvoju mušic. Povezavo gena *Toll* z zaznavanjem tujkov in odzivom prirojene imunosti so odkrili leta 1995 v skupini Julesa Hoffmanna, ki je za svoje delo prejel Nobelovo nagrado za medicino leta 2011. V eksperimentu z vinskimi mušicami, ki so izražale na temperaturno občutljivo mutanto proteina Toll, so odkritelji pokazali, da so takšne vinske mušice zelo občutljive na okužbo z glivo *Aspergillus fumigatus* (Slika 1). Izkazalo se je, da je za prirojeno obrambo pred okužbo z glivami odgovoren receptorski kompleks Toll in proteina Spätzle, ki prepoznavata



Slika 1: slika elektronskega mikrografa vinske mušice z okvaro gena *Toll*, okužene z *A. fumigatus* (8).

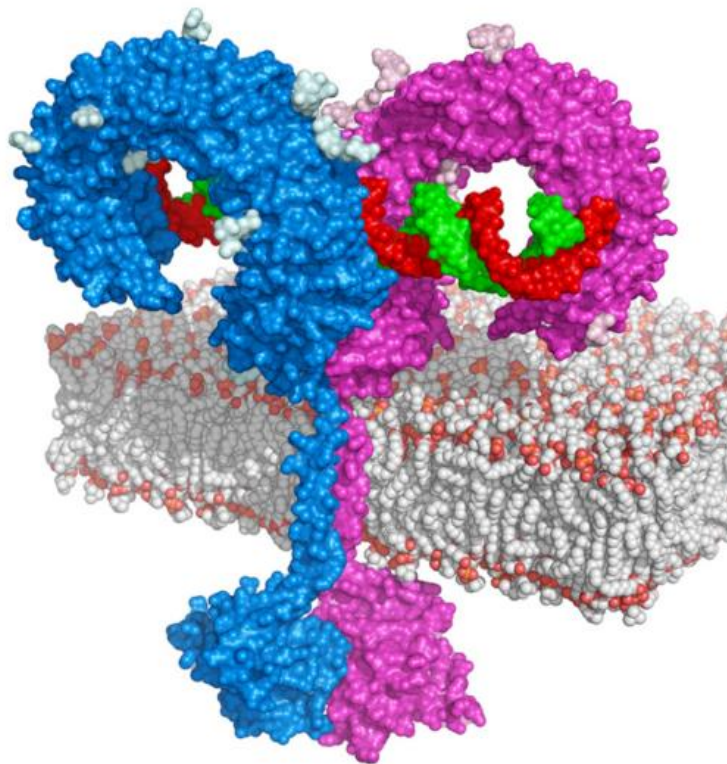
za te mikroorganizme značilne PAMP (3).

Leto po prebojnem odkritju pri modelnem organizmu vinski mušici, so Charles Janeway in sodelavci odkrili sesalski homolog genu *Toll*. To je bil Toll-u podoben receptor 4 (TLR4), ki po aktivaciji sproži izražanje protivnetnih dejavnikov interlevkina-1 (IL-1) in interlevkina-6 (IL-6) preko translokacije transkripcijskega faktorja NF- $\kappa$ B v jedro celice (4). Receptor TLR4 prepoznava prisotnost lipopolisaharida (LPS, endotoksin), gradnika celične stene po Gramu negativnih bakterij (2).

### 3. STRUKTURA

Do sedaj je bilo odkritih 10 človeških receptorjev TLR (2), v miših pa so bili odkriti še dodatni trije TLR receptorji (TLR11, TLR12 in TLR13) (5). Za Toll-u podobne receptorje je značilna podkvasta ektodomena, ki jo gradi 19-25 z levcinom bogatih ponovitev (*angl.* leucine-rich repeats; LRRs). Receptorji TLR so membranski glikoproteini tipa I, ki enkrat prebadajo celično membrano in imajo C-konec v citosolu. Skupaj z receptorji za interlevkin-1 (IL-1R) jih uvrščajo v proteinsko naddružino, za katero velja, da imajo receptorski proteini na C-koncu domeno Toll/IL-1R (TIR), ki igra glavno vlogo pri iniciaciji signalne kaskade ob vezavi liganda na N-koncu proteina (6).

Receptorji TLR vežejo širok spekter ligandov, ki so značilni za mikroorganizme, ter tudi nekaj gostiteljskih molekul (**Error! Reference source not found.**). Ob vezavi antagonistu poteka dimerizacija dveh receptorjev TLR (Slika 2), ki gradita aktiven proteinski kompleks v obliki črke M. C-končni domeni TIR sta v takšnem kompleksu v neposredni bližini, kar sproži signaliziranje v citosolu (7).



Slika 2: strukturni model aktivnega dimera receptorja TLR3 z vezanim ligandom dsRNA. Iz modela sta jasno vidni podkvasti ektodomeni, ki vežeta ligand. Ob inducirani dimerizaciji se zblížata citosolni domeni TIR, ki omogočata znotrajcelično signaliziranje (7).

**Tabela 1: Receptorji TLR in njihovi ligandi (5, 8).**

| TLR    | Eksogeni ligandi (izvor)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Endogeni ligandi                                                                                                                                                                                                                                                   |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TLR1/2 | Triacil lipopeptidi (bakterije, mikobakterije)<br>Topni faktorji ( <i>Neisseria meningitides</i> )<br>OspA ( <i>Borrelia burgdorferi</i> )<br>Porin PorB ( <i>Neisseria meningitides</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Niso znani                                                                                                                                                                                                                                                         |
| TLR2   | Lipoproteini in lipopeptidi (veliko različnih patogenov)<br>Peptidoglikan (po Gramu pozitivne bakterije)<br>Lipoteihoična kislina (po Gramu pozitivne bakterije)<br>Lipoarabinomanan (mikobakterije)<br>V fenolu topen modulin ( <i>Staphylococcus epidermidis</i> )<br>Glikoinozitolfosfolipidi ( <i>Trypanosoma Cruzi</i> )<br>Glikolipidi ( <i>Treponema maltophilum</i> )<br>Porini ( <i>Neisseria</i> )<br>Zimosan (glive)<br>Atipični LPS ( <i>Leptospira interrogans</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> )<br>Diacil lipopeptidi (sintetične spojine)<br>Hemaglutinin (virus ošpic) | HSP60<br>HSP70<br>Hialuronan<br>Surfaktantni protein A                                                                                                                                                                                                             |
| TLR3   | dsRNA (virusi)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Niso znani                                                                                                                                                                                                                                                         |
| TLR4   | LPS (po Gramu negativne bakterije)<br>Taksol (rastline)<br>Fuzijski protein (Respiratorni sincicijski virus - RSV)<br>Plaščni proteini (MMTV)<br>HSP60 ( <i>Chlamydia pneumoniae</i> )<br>Flavolipin ( <i>Flavobacterium meningosepticum</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | HSP60<br>HSP70<br>Fragment hialuronske kisline<br>Tip III ponovitev dodatne domene A<br>fibronektina<br>Polisaharidni fragmenti heparan sulfata<br>Fibrinogen<br>Nasičene in nenaličene maščobne kisline<br>Surfaktantni protein A<br>$\alpha$ A kristalin n HSPB8 |
| TLR5   | Flagelin (bakterije)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Niso znani                                                                                                                                                                                                                                                         |
| TLR6/2 | Diacil lipopeptidi (mikoplazme)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Niso znani                                                                                                                                                                                                                                                         |
| TLR7   | Imidazokvinolin (sintetična spojina)<br>Loksoribin (sintetična spojina)<br>Bropirimin (sintetična spojina)<br>Gvanozinski analogi<br>ssRNA (virusi)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Nukleinske kisline                                                                                                                                                                                                                                                 |
| TLR8   | ssRNA (virusi)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Nukleinske kisline                                                                                                                                                                                                                                                 |
| TLR9   | Nemetilirana CpG DNA (bakterije)<br>DNA (virus herpes)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | dsDNA<br>Kompleks kromatin-IgG                                                                                                                                                                                                                                     |
| TLR10  | Niso znani                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Niso znani                                                                                                                                                                                                                                                         |

#### 4. SIGNALIZIRANJE

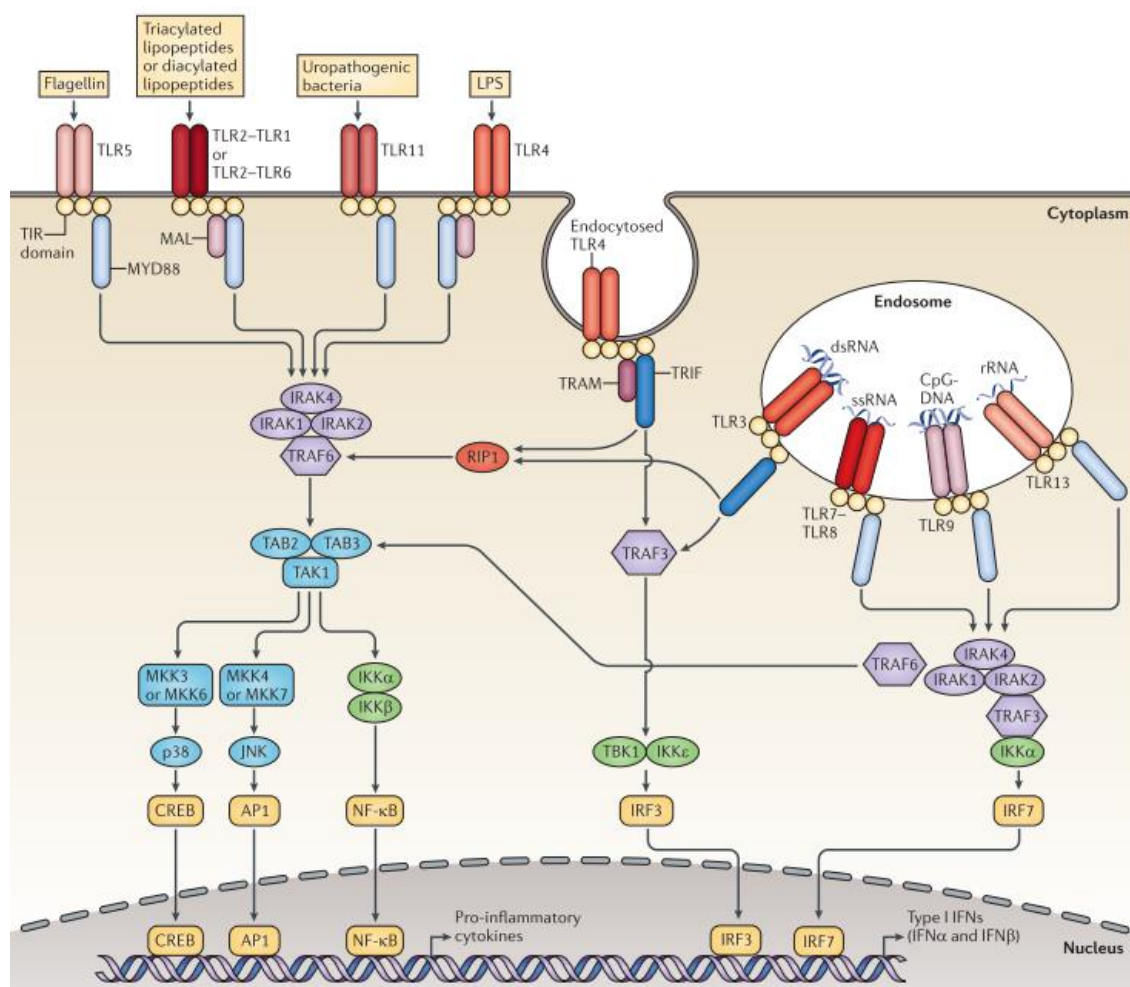
Signaliziranje in vezava ligandov je povezana tudi z lokalizacijo receptorjev TLR (Slika 3). Ugotovljeno je bilo, da se sesalski receptorji TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, in TLR11 nahajajo na površini celice, medtem ko se TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 in TLR13 lokalizirajo v endosome.

Vezava liganda inducira dimerizacijo dveh receptorjev TLR, kar privede do interakcije med domenama TIR, ki služita kot ogrodje za vezavo citosolnih adapterskih proteinov, ki sprožijo signalno

kaskado. Na domeni TIR se vežejo molekule, ki prav tako vsebujejo to ohranjeno proteinsko strukturo, kot so MyD88, MAL, TRIF in TRAM.

Od MyD88 odvisno signaliziranje, ki je značilno za dimere receptorjev TLR4, TLR5, TLR9, TLR11 in TLR13, ter heterodimere TLR2-TLR1, TLR2-TLR6 in TLR7-TLR8, poteka preko kinaz IRAK ter adapterskega proteina TRAF6 ter vodi do aktivacije transkripcijskih faktorjev CREB, AP1 in NF- $\kappa$ B, ki sprožijo prepis genov za vnetne citokine kot so npr. IL-1, IL-8 in TNF. Poleg že naštetih transkripcijskih faktorjev je za signaliziranje endosomskih receptorjev TLR3 in TLR9 preko MyD88 značilno prepisovanje genov za interferone tipa I (IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ ) preko aktivnega IRF7.

Signaliziranje preko receptorjev TLR3 in TLR4 pa lahko poteka tudi po od MyD88 neodvisni signalni poti. V tem primeru poteka signalna kaskada navzdol od adapterskega proteina TRIF in privede do izražanja interferonov tipa I s transkripcijskim faktorjem IRF3. TRIF interagira tudi s prej omenjenim TRAF6, kar privede do t.i. poznega izražanja vnetnih citokinov. V primeru TLR4, preko katerega poteka signaliziranje tako po od MyD88 odvisni, kot tudi neodvisni poti, je za vezavo TRIF potreben tudi protein TRAM (5).



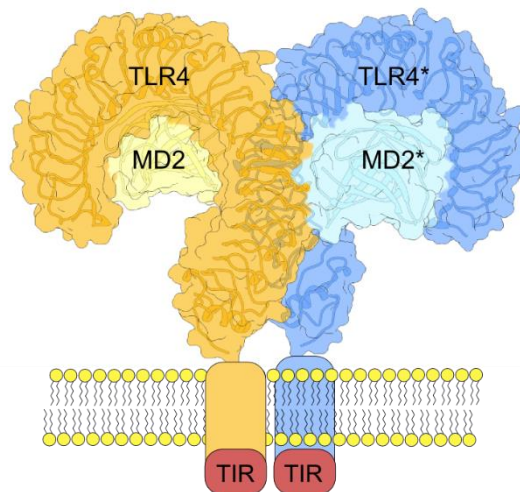
Slika 3: shematska ponazoritev signaliziranja preko receptorjev TLR. Prikazana je lokalizacija in signaliziranje preko aktiviranih receptorjev TLR, ki vodi do produkcije vnetnih citokinov ali interferonov tipa I (5).

## 5. RECEPTORJI NA POVRŠINI CELIC

Receptorji, ki so lokalizirani na celični membrani, zaznavajo predvsem lipidne in proteinske molekule, ki se nahajajo na površini mikroorganizmov (2).

### 5.1. TLR4

Receptor TLR4 je bil prvi odkriti sesalski Toll-u podoben receptor. Je edni receptor, ki za vezavo liganda LPS potrebuje koreceptor MD2 (Slika 4). Pri prepoznavanju in ekstrakciji endotoksina iz bakterijske zunanje membrane sodelujeta tudi serumski LPS-vezavni protein (LBP) in CD14. Pet izmed šestih acilnih verig molekule LPS se veže v hidrofobni žep na proteinu MD2, medtem ko preostala veriga tvori hidrofobne interakcije na površini med MD2 in TLR4. Dva receptorka kompleksa TLR4-MD2-LPS dimerizirata in sprožita znotrajcelično signalno kaskado s povezavo domen TIR (2). TLR4 se izraža na epiteljskih celicah, dendritskih celicah, tkivnih bazofilcih, limfocitih B in fagocitih – torej celicah, ki prve pridejo v stik s patogeni. Ta receptor pa zaznava tudi gostiteljske proteine, ki so povezani z celičnim stresom in nekrozo, kot so npr. proteini toplotnega šoka in tako sproži vnetni odziv na mestu poškodbe (9).



Slika 4: shematska predstavitev zgradbe aktivnega receptorskega kompleksa TLR4-MD2. Po PDB ID 3FXI.

### 5.2. TLR2, TLR1 in TLR6

TLR2 zaznava prisotnost velikega števila različnih molekul bakterijskega, glivnega, parazitskega in virusnega izvora. Ob vezavi agonista na plazmalemi celice, tvori ta receptor heterodimere z receptorji TLR1 in TLR6. Kompleks TLR2-TLR1 veže triacilirane lipopeptide po Gramu pozitivnih bakterij in mikoplazem, medtem ko TLR2-TLR6 prepozna diacilirane lipopeptide, saj TLR6 v nasprotju s TLR1 nima hidrofobne površine za vezavo tretje alicne verige liganda (2). Receptorji TLR2, TLR1 in TLR6 so prav tako prisotni na dendritskih celicah, fagocitih, tkivnih bazofilcih in na nekaterih epitelijih (7).

### 5.3. TLR5 in TLR11

Receptor TLR5 prepoznava bakterijski protein flagelin, poglavitnega gradnika bičkov po Gramu negativnih bakterij. TLR5 izražajo dendritske celice v lamini proprii okoli epitelija tankega črevesa, ki usmerjajo diferenciacijo T celic pomagalk in limfocitov B v okolici prebavnega sistema (2). Ker so epitelne celice črevesa stavljene v stiku z bakterijami, je pomembno, da se TLR5 ne izraža na apikalni strani teh celic. Epitelijske celice zaznavajo le patogene bakterije, ki se prebijejo na bazolateralno stran črevesnega epitelja (9). Mišji TLR11 je strukturno soroden TLR5. Izraža se v epitelnih celicah ledvic in mehurja, kjer zaznava okužbo z uropatogenimi bakterijami (2).

## 6. RECEPTORJI V INTRACELULARNIH VEZIKLIH

Receptorji, ki so izraženi izključno v intracelularnih veziklih kot so endoplazemski retikulum, endosomi, lizosomi, endolizosomi prepoznajo mikrobne nukleinske kisline. Pod normalnimi pogoji lastne nukleinske kisline gostitelja ne aktivirajo prirojenega imunskega odgovora, saj jih razgradijo serumske nukleaze preden bi lahko prišle v stik s TLR-ji v endolizosomu – zato je lokaliziranje receptorjev, ki prepoznajo nukleinske kisline, v intracelularnih veziklih tako pomembno, saj jim prepreči stik z ekstracelularno DNA (2).

### 6.1. TLR3

Sprva so odkrili, da TLR 3 prepoznava poli(I:C) - sintetične analoge dsRNA, ki posnemajo virusne infekcije in inducirajo protivirusni imunski odgovor tako, da sprožijo proizvodnjo interferona I in vnetnih citokinov, kar nakazuje, da ima TLR3 ključno vlogo pri preprečevanju virusnih okužb. Ektodomena TLR3 ima podkvasto obliko. dsRNA se veže na dve različni mesti na N in C terminalnem delu, povezava v TLR3 homodimer poteka preko C-terminalne regije. Poleg genomske dsRNA virusov, TLR3 prepoznava tudi nekatere majhne interferenčne RNA (2).

### 6.2. TLR7

TLR7 prepoznava poleg imidazokvinolinskih derivatov in gvanozinskih analogov tudi ssRNA virusov gripe, HIV, idr. ter nekatere majhne interferenčne RNA. Veliko TLR7 je izraženega na dendritskih celicah, ob virusni okužbi (ob prepoznavi virusne ssRNA) ta sproži proizvodnjo velikih količin interferona I. Celice internalizirajo viruse, v endolizosomih se TLR7 sreča z virusno RNA in sproži iniciacijo protivirusnega odgovora. Odkritje, da blokada zakisanja vsebine endolizosoma prepreči tudi od TLR7 inducirane odgovore nakazuje, da je internalizacija nukleinske kisline v endolizosom ključna za interakcije s TLR7(2).

TLR7 sodeluje tudi pri prepoznavanju citosolnih virusnih okužb (2).

### 6.3. TLR8

Filogenetsko je TLR8 najbolj podoben TLR7 receptorju. Človeški TLR8 prepoznava virusno ssRNA. Izraža se v različnih tkivih, največ ga je v monocitih (2).

## 6.4. TLR9

TLR9 prepoznava nemetilirano CpG DNA, ki je značilna za bakterije in viruse, je pa redka v sesalskih celicah, saj so pri sesalcih CpG regije načeloma hipermetilirane. Zorenje TLR9 s proteolizo je še dodaten varovalni mehanizem, ki brani pred reakcijo na lastno DNA. CpG oligonukleotidi preko TLR9 aktivirajo dendritske celice, makrofage, in B celice. Dendritske celice imajo veliko TLR9, ta jim služi kot senzor okužb z DNA virusi (npr. HSV-1 in HSV-2). Tako kot pri TLR7 tudi za TLR9 velja, da blokada zakisanja vsebine endolizosoma prepreči signalizacijo TLR9 (2).

TLR9 prepoznava tudi netopni kristal hemozin, ki nastane kot stranski produkt razgradnje hemoglobina gostitelja pri okužbi s *Plasmodium falciparum* (2).

## 7. BOLEZNI, POVEZANE S TLR RECEPTORJI

Receptorji TLR sodelujejo tudi pri vnetnih odzivih in v določenih patoloških stanjih. Pod določenimi pogoji lahko TLR-ji zaznajo tudi gostitelju lastne molekule, npr. protein toplotnega šoka 60 (HSP60), fragmenti hialuronana in fibronektin ob vezavi na TLR2 ali TLR4 aktivirajo NF  $\kappa$  B (10).

### 7.1. Alzheimerjeva bolezen

Alzheimerjeva bolezen je nenalezljiva vnetna bolezen. Amiloid-<sup>®</sup> sproži sterilno vnetje in je prepoznan na od TLR4 in TLR6 odvisen način. To prepoznavanje verjetno poteka prek TLR4-TLR6 heterodimerov v sodelovanju s CD36 receptorjem odstranjevalcem (2).

### 7.2. Avtoimunske bolezni

Če so lastne nukleinske kisline povezane v komplekse z endogenimi proteini, lahko postanejo odporne proti nukleazam, kar pomeni, da postanejo dostopne endosomskim receptorjem TLR, ki spodbujajo in ohranjajo avtoimunske procese. Ugotovitev, da je transport TLR7 in TLR9 od ER do endolizosoma induciran z njihovimi ligandi pa tudi z LPS, predlaga možnost, da bi vnetje lahko naredilo nukleinske kisline bolj dostopne TLR7 in TLR9 receptorjem (2).

Pri sistemskem eritemskem lupusu je prisotna višja koncentracija protiteles proti lastnim nukleinskim kislinam ali nukleoproteinom gostitelja. Serum pacientov s sistemskim eritemskim lupusom spodbuja dendritske celice k proizvodnji interferona tipa I, koncentracija interferona tipa I pa korelira z resnostjo bolezni. Lastne nukleinske kisline ali nukleoproteini vezani na avtoprotitelesa se internalizirajo preko FcγRIIa receptorjev na dendritskih celicah in pristanejo v TLR7 in TLR9 vsebujočih veziklih, kar vodi do proizvodnje tipa interferona I. Poleg tega se ti imunski kompleksi vežejo tudi na antigen B celičnih receptorjev in se internalizirajo, nato pa aktivirajo te TLR-je, kar prispeva k aktivaciji avtoreaktivnih limfocitov B. Kooperativna aktivacija dendritskih in B celic določa napredovanje in trajanje avtoimunskih bolezni (2).

### 7.3. Rak

Verzikan, proteoglikan zunajceličnega matriksa, se nabira v tumorskih celicah in preko TLR2, TLR6 in CD14 spodbuja mieloidne celice, ki se jim uspe infiltrirati v tumor, da proizvajajo TNF, ki pospešuje metastaziranje tumorskih celic. Verzikan in TLR2 sta v neposredni interakciji, če torej pride do prepoznavanja verzikana s strani TLR2, se ustvari vnetno okolje, ki je ugodno za tumorsko celico (2)

#### 7.4. Možna vloga pri angiogenezi

Osnovni mehanizmi za angiogenezo vključujejo večje lokalne tkivne koncentracije adenozin in adenin nukleotidov. Adenozin je metabolni prenašalec, ki se ustvarja intracelularno ali ekstracelularno zaradi ATP katabolizma v ishemičnem ali vnetem tkivu, njegova koncentracija pa se naglo poveča po celični poškodbi ali ishemiji (10).

V prisotnosti aktivirajočih ligandov kot so lipopolisaharidi (lipopolisaharidi lahko aktivirajo brstenje endotelijskih celic s signalizacijo preko TLR4 tudi v odsotnosti citokinov) ali nemetilirani CpG motivi, več TLR-jev sesalcev (natančneje 2, 4, 7 in 9) povzroči povečanje sinteze in sproščanja žilnega endotelijskega rastnega faktorja ob prisotnosti adenozina, adenozin pa deluje na adenozin A<sub>2A</sub> receptorje. Posledično se pospeši indukcija angiogeneze. Živali z motnjami v adenozin A<sub>2A</sub> receptorjih pa nasprotno kažejo manj vnetij in ran povezanih z angiogenezo po poškodbi (10).

#### 7.5. Vloga pri razvoju ateroskleroze

Za aterosklerozo je značilno kronično vnetje žilnih sten, zaradi česar se kopičijo lipidi in makrofagi v podendotelijskem prostoru. Epidemiološke študije so pokazale, da obstaja povezava med aterosklerozo in bakterijskimi vnetji, kar je nakazalo na morebitno povezavo med aterosklerozo in aktivacijo receptorjev TLR. Opravljenih je bilo več genetskih analiz za določitev povezave med TLR-ji in aterosklerozo. Tudi korelacije v kliničnih študijah podpirajo povezavo med TLR-ji in aterosklerozo. Eksperimentalni podatki pa so v skladu s kliničnimi ugotovitvami (10).

Več vrst TLR-jev (1, 2, 4 in 5) se izraža v celicah v aterosklerotičnih plakih. Nivo TLR4 se poveča s proaterogenimi proteini kot je oksidirani LDL. Pri miših z izbitim genom za TLR4 se zniža pojavnost ateroskleroze ob istih koncentracijah holesterola v serumu kot pri kontrolnih živalih. Tudi pri miših z izbitim genom za TLR2 se nekoliko zmanjša pojavnost ateroskleroze (10).

#### 7.6. Miokardne bolezni

TLR-ji niso izraženi in funkcionalni le v imunskih in vaskularnih celicah, ampak se nahajajo tudi v srčnih mišičnih celicah. TLR 2, 3, 4 in 6 se gotovo izražajo v srčnih mišičnih celicah, TLR 1 in 5 pa ne. Aktivacija TLR4 zmanjša apoptozo srčnih mišičnih celic zaradi učinkovanja sintaze dušikovega oksida, kar nakazuje na to, da je TLR signalizacija pomembna pri razvoju srčnih bolezni kot so septična kardiomiopatija, ishemija, srčno popuščanje, srčna hipertrofija, toksična kardiomiopatija (10).

## 8. RECEPTORJI TLR KOT TERAPEVTSKE TARČE

Tabela 2: Potencial receptorjev TLR kot terapevtskih tarč pri različnih boleznih (11).

| Bolezen oz. stanje                             | Vključeni TLR-ji       | Terapevtski pristop                                    |
|------------------------------------------------|------------------------|--------------------------------------------------------|
| Sepsa                                          | Mnogo                  | Topni TLR-ji<br>Antagonisti<br>Zaviralci signalizacije |
| Astma                                          | Mnogo                  | Bakterijska cepiva<br>Agonisti<br>Antagonisti          |
| Kronična obstruktivna pljučna bolezen          | TLR2, TLR4             | Antagonisti                                            |
| Avtoimunske bolezni                            | TLR9                   | Antagonisti                                            |
| Rak                                            | TLR2, TLR4, TLR7, TLR9 | Agonisti                                               |
| Kronično vnetje                                | TLR2, TLR4             | Antagonisti                                            |
| Akutno vnetje                                  | TLR2, TLR4             | Antagonisti                                            |
| Kožne bolezni (npr. akne, atopični dermatitis) | Mnogo                  | Bakterijska cepiva<br>Agonisti                         |
| Subverzija imunskega sistema                   | TLR7                   | Agonisti                                               |

### 8.1. Sepsa

Trenutno razumevanje patogeneze sepse kaže, da bakterije in bakterijski produkti aktivirajo nenadzorovano omrežje gostiteljevih mediatorjev, kot so vnetni citokini, ki lahko povzročijo odpoved več organov, kardiovaskularni kolaps in smrt. Na podlagi ključne vloge receptorjev TLR pri prepoznavanju mikrobnih komponent, je jasno, da lahko neprimeren odziv receptorjev TLR na bakterijske antigene vodi do pretiranih odzivov, kot je sepsa. Antagonisti proteinov TLR bi zato lahko bili koristno orodje za preprečevanje škodljivih vnetnih odzivov, ki so povezana s sistemskimi mikrobnimi infekcijami (11).

Predlagane so bile tri osnovne strategije za zmanjšanje signalizacije preko TLR pri sepsi (11):

- uporaba topnih TLR, ki se vežejo mikrobne ligande in jih nevtralizirajo
- uporaba majhnih molekul ali protiteles, ki blokirajo vezavo ligandov ali kompleksov protein-ligand na receptorje
- specifični nizkomolekularni inhibitorji skupnih signalnih potih, ki se sprožijo po interakciji liganda s TLR

## 9. LITERATURA

1. R. Medzhitov, *Nat. Rev. Immunol.* (2001).
2. T. Kawai, S. Akira, *Nat. Immunol.* **11**, 373–84 (2010).
3. The 2011 Nobel Prize in Physiology or Medicine - Advanced Information.
4. R. Medzhitov, P. Preston-Hurlburt, *Nature*. **388**, 6–9 (1997).
5. L. a J. O'Neill, D. Golenbock, A. G. Bowie, *Nat. Rev. Immunol.* **13**, 453–60 (2013).
6. S. Akira, K. Takeda, *Nat. Rev. Immunol.* **4**, 499–511 (2004).
7. I. Botos, D. M. Segal, D. R. Davies, *Structure*. **19**, 447–59 (2011).
8. B. Lemaitre, E. Nicolas, L. Michaut, *Cell*. **86**, 973–983 (1996).
9. K. Takeda, T. Kaisho, S. Akira, *Annu. Rev. Immunol.* **21**, 335–76 (2003).
10. S. Frantz, G. Ertl, J. Bauersachs, *Nat Clin Pr. Cardiovasc Med.* **4**, 444–454 (2007).
11. C. Zuany-Amorim, J. Hastewell, C. Walker, *Nat Rev Drug Discov.* **1**, 797–807 (2002).