

El inflamasoma: mecanismos de activación.

Raibel Suárez y Neudo Buevas.

Centro de Investigaciones Biomédicas, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) Zulia, Hospital Universitario de Maracaibo. Maracaibo, Venezuela.

Palabras clave: inflamación, inflamasoma, caspasa-1, canónica, IL-1 β , NALP3.

Resumen. La inflamación es una respuesta biológica rápida del sistema inmune en tejidos vasculares, dirigida a eliminar estímulos capaces de producir daño y a iniciar la curación y la reparación. Los complejos macromoleculares denominados inflamasomas están constituidos por un receptor NOD (NLR), un receptor de AIM2 (ausente en melanoma 2) el ALR, la proteína tipo punto asociada a apoptosis (ASC) y la procaspasa-1, los cuales pueden ser activados por variación en la concentración iónica y de ATP intracelular y extracelular, por desestabilización del fagolisosoma, por internalización de cristales insolubles y por mecanismos de oxidoreducción, lo cual permitirá la activación de la plataforma molecular y el consiguiente procesamiento de las prointerleuquinas inflamatorias a sus formas activas. En la actualidad existen dos nodos de señalización utilizados por los inflamasomas: canónica y no canónica para generar respuestas efectoras. Datos recientes vinculan al inflamasoma NLRP3, la IL-1 β y a la IL-18, en el desarrollo y evolución de enfermedades tales como: aterosclerosis, diabetes tipo II, hiperhomocisteinemia, gota, malaria e hipertensión arterial e identificaron esta cascada, como un blanco quimioterapéutico ideal para la prevención de estas patologías. En esta revisión se discutirán los mecanismos de activación y regulación del inflamasoma que estimulan, modulan y resuelven los procesos inflamatorios.

Inflammasome: activation mechanisms.*Invest Clin 2015; 56(1): 74 - 99***Keywords:** Inflammation, inflammasome, caspase-1, canonical, IL-1 β , NALP3.

Abstract. Inflammation is a rapid biologic response of the immune system in vascular tissues, directed to eliminate stimuli capable of causing damage and begin the process of repair. The macromolecular complexes known as “inflammasomes” are formed by a receptor, either NOD (NLR) or ALR, the receptor absent in melanoma 2 (AIM2). In addition, the inflammasome is formed by the speck-like protein associated to apoptosis (ASC) and procaspase-1, that may be activated by variations in the ionic and intracellular and extracellular ATP concentrations; and the loss of stabilization of the fagolisosome by internalization of insoluble crystals and redox mechanisms. As a result, there is activation of the molecular platform and the processing of inflammatory prointerleukins to their active forms. There are two modalities of activation of the inflammasome: canonical and non-canonical, both capable of generating effector responses. Recent data associate NLRP 3, IL-1 β and IL-18 in the pathogenesis of a variety of diseases, including atherosclerosis, type II diabetes, hyperhomocysteinemia, gout, malaria and hypertension. The inflammasome cascade is emerging as a new chemotherapeutic target in these diseases. In this review we shall discuss the mechanisms of activation and regulation of the inflammasome that stimulate, modulate and resolve inflammation.

Recibido: 05-02-2014 Aceptado: 03-07-2014

INTRODUCCIÓN

La inflamación es una respuesta biológica rápida del sistema inmune en tejidos vasculares, dirigida a eliminar los estímulos capaces de producir daño y a iniciar la curación y reparación. Los signos clínicos clásicos de la inflamación: calor, dolor, rubor y tumor, descritos por Celsus (30 BC-30 AC), son el resultado de la acción de factores solubles tales como las citoquinas y las quemoquinas, las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y los péptidos antimicrobianos y de la activación de cascadas bioquímicas originadas en la circulación (complemento, coagulación, fibrinólisis) (1).

Aunque la inflamación aguda es una reacción de defensa, la inflamación crónica

contribuye a la patogenia de un gran número de enfermedades y debe ser estrictamente regulada mediante una compleja interrelación de señales inhibitorias y factores de transcripción.

Los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y los patrones moleculares asociados a daño (DAMPs), estimulan a los receptores de reconocimiento de patógeno (PRRs) (2), que son proteínas codificadas en la línea germinal. La unión de los PAMPs o de los DAMPs a los PRRs conduce a la activación de múltiples vías de señalización y una variedad de factores de transcripción tales como el factor nuclear (NF)- κ B y los miembros de la familia del factor regulador del interferón (IRF), los cuales regulan la expresión de los genes inflamatorios, inmunes

y antivirales que resulta finalmente en el desarrollo de la inflamación y la inmunidad del hospedador (3, 4).

Se han descrito cuatro familias de PRRs que reconocen patógenos y son capaces de inducir respuesta intracelular: los receptores tipo Toll (TLR), los receptores tipo NOD (proteínas con dominio de oligomerización y unión a nucleótidos) (NLR), los receptores tipo RIG-I (proteína inducible por ácido retinóico) y los receptores tipo lectina C (CLR) (5). Estas moléculas están expresadas en los macrófagos, en las células del epitelio pulmonar y en las células reclutadas del sistema inmune, aunque también se han encontrado en las células endoteliales, estromales, fibroblastos y neuronales. Los TLRs están presentes en la membrana celular y en el lumen de las vesículas intracelulares como los endosomas o los lisosomas, mientras los NLRs, ALRs y las helicasas RIG-I (RLRs), son sensores microbianos intracelulares y los CLR son tanto receptores intracelulares como transmembrana (3-6).

Los TLRs son una familia de diez receptores en el humano y 13 en el ratón cuya localización es integral de membrana y endosomal, y son responsables de detectar e iniciar la respuesta inmune innata, contra patógenos bacterianos, parasitarios, virales y fúngicos, debido a su capacidad de reconocer los PAMPs (7). Estos receptores se encuentran en las células del sistema inmunológico como los macrófagos, las células dendríticas, los linfocitos B y generan la respuesta inicial inflamatoria contra el patógeno, debido a que conduce a la maduración de las células presentadoras de antígeno y a la producción de citoquinas inflamatorias (8, 9). Asimismo, los TLRs son receptores de DAMPs. Entre los que se han identificado como ligandos de los diferentes TLRs se incluyen el ácido desoxirribonucleico (ADN) mitocondrial (TLR-9), las histonas (TLR-4), los fragmentos de hialuronato

(TLR-2 y 4) y las proteínas del shock térmico (TLR-2 y 4), entre otras (10).

Los RLRs pertenecen a la familia de ARN helicasas, que detectan especies de ARN (ácido ribonucleico) provenientes de virus en el citoplasma y coordinan la inducción de programas anti virales mediante la inducción de la vía Interferón I (IFN I) (3, 4).

Con respecto a las NLRs, son una familia de 23 proteínas codificadas en el genoma humano, las cuales contienen un dominio de unión de nucleótidos y un dominio repetido rico en leucina (que incluye: NALP, NOD, PYPAF y CATERPILLER); hasta ahora, se han identificado 8 miembros de estas 23 proteínas con capacidad para formar los inflamomas, a saber: la proteína NLRP1, la NLRP3, la NLRP6, la NLRP12, la NLRP2, la NLRC4, la ALR (receptor tipo AIM-2 o ausente en melanoma 2) y el sensor citoplasmático RIG-1. Por otra parte, estas proteínas presentan particularidades en lo referente a su localización celular ya que en los vertebrados se ha encontrado que las proteínas NLRP1, NLRP3, NLRC4 y RIG-1 tienen una distribución citosólica y ubicada en la mayoría de los tejidos celulares que componen a los organismos vertebrados, mientras que el sensor citoplasmático AIM-2, presenta una ubicación dual entre el citosol y el núcleo de las células mieloides, específicamente en los macrófagos. En el caso de la proteína NLRP12, su localización preferencial es en las células mieloides, caso contrario para el sensor citoplasmático NLRP6 el cual se encuentra expresado en el hígado, los riñones y el intestino delgado de los seres humanos y finalmente la proteína receptora NLRP2 la cual se ubica en el citosol de las neuronas y las microglías del sistema nervioso central de los vertebrados (11).

Esta familia se ha implicado en diversas vías de señalización pro inflamatorias. Muchas proteínas NLR se oligomerizan en

un complejo macromolecular conocido como inflamasoma (12).

INFLAMASOMA

Tschopp y su grupo de investigación (13), utilizaron el término inflamasoma para definir la plataforma de activación de la caspasa-1 característica de la inmunidad innata y que representa la reacción coordinada de respuesta dirigida a suprimir a microorganismos patógenos y a evitar el daño tisular estéril. La plataforma proteica está formada por un receptor con dominio de oligomerización y unión a nucleótido (NLR) o AIM2 (ausente en melanoma 2), la proteína ASC y la caspasa-1 (14). Esta plataforma molecular resulta en la generación de caspasas inflamatorias y en el procesamiento de la prointerleuquina 1 β (pro-IL-1 β) y la prointerleuquina 18 (pro-IL-18) hacia sus formas activas: la interleuquina 1 β (IL-1 β) y la interleuquina 18 (IL-18).

El ensamblaje del inflamasoma es mediado por la interacción de los dominios de las proteínas pertenecientes a la superfamilia de muerte, la cual está comprendida por subfamilias que contienen dominio de muerte (DD), dominio efector de muerte, dominio de reclutamiento de caspasa (CARD) y dominio pirina (PYD). La subfamilia NLRP de los NLR tales como NLRP1 y NLRP3, contienen en su extremo C-terminal un dominio rico en repeticiones de leucina (LRR), el cual está implicado en el reconocimiento del ligando y en mantener al NLR en estado inactivo, un dominio central de unión a nucleótidos NACHT (NOD) altamente conservado y un dominio N-terminal PYD y tras la activación se oligomerizan a través de su dominio de unión a nucleótido y recluta a la proteína tipo punto que contiene un dominio de reclutamiento de caspasa y un dominio pirina (ASC). La proteína ASC está comprendida por un dominio PYD en el N-terminal y un dominio CARD

en su C-terminal y juega un papel crítico en el ensamblaje del inflamasoma NLRP3. La ASC es reclutada por el oligómero NLRP mediante interacción homotípica PYD, mientras que la interacción homotípica CARD entre la ASC y la procaspasa-1, ocurre después para ensamblar el inflamasoma y se ha sugerido que la ASC se autoasocia a través de sus dominios PYD y CARD. Por su parte, la ASC se ensambla en una estructura tipo punto, una vez que ha ocurrido la estimulación vía apoptótica o inflamatoria (Fig. 1) (15, 16).

La activación del inflamasoma tiene como resultado final la liberación de las interleuquinas IL-1 β e IL-18 y esto ocurre en un sistema de dos niveles, luego de la injuria celular. La señal-1 es mediada por la estimulación de los PRRs a través de los PAMPs o los DAMPs; la inducción de los PRRs resulta en la activación de la vía NF- κ B para la expresión de la pro-IL-1 β y de los genes asociados a las proteínas del inflamasoma. La señal-2 es conferida tanto por a) el eflujo de potasio debido a la estimulación del canal de potasio sensible a ATP o por la formación de poros por toxinas bacterianas b) la desintegración lisosomal que conduce a la salida de catepsina B en el citosol y c) la generación intracelular de las especies reactivas de oxígeno (ROS). Esta señal además es requerida para el ensamblaje del inflamasoma, lo que resulta en la maduración de las interleuquinas IL-1 β e IL-18 por la enzima caspasa-1 mediante el procesamiento proteolítico e induce una muerte celular inflamatoria conocida como piroptosis (14, 16, 17).

La piroptosis, es una muerte celular programada de tipo inflamatoria, dependiente de la enzima caspasa-1, la cual está asociada con una respuesta durante la inflamación y tiene características tanto de la apoptosis y de la necrosis, como la fragmentación del ADN; aunque no conduce a la ruptura de la membrana plasmática, si ocu-

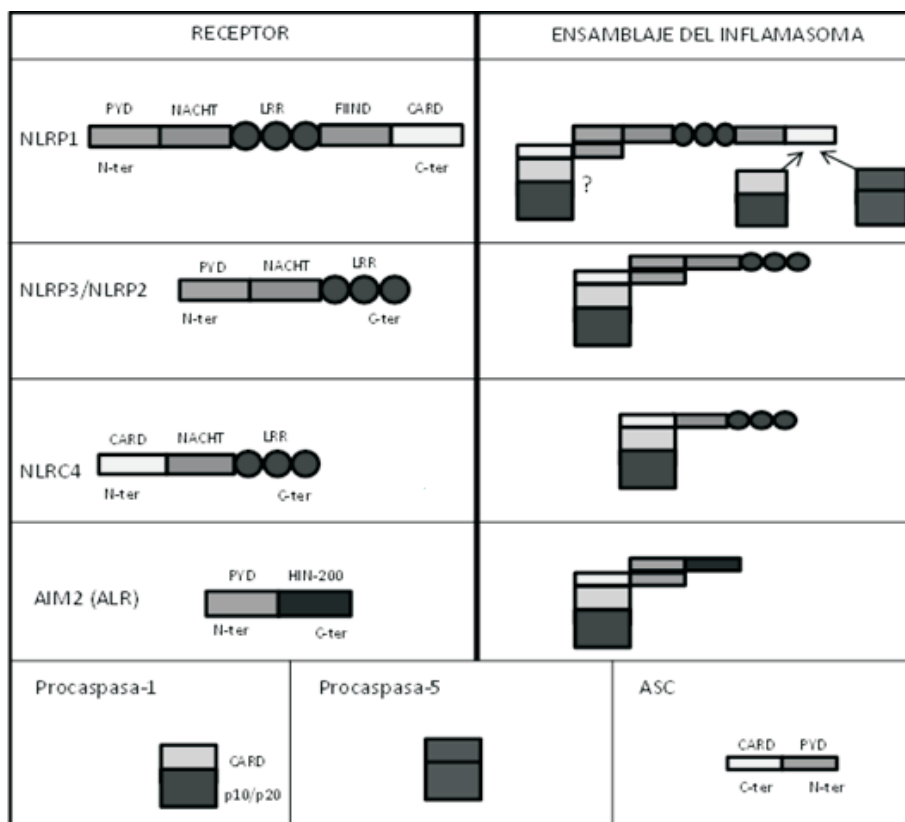


Fig. 1. Proteína receptora y el ensamblaje de cada inflammasoma: Los inflammasomas están constituidos por una proteína receptora (NLR o ALR), la proteína adaptadora ASC y la procaspasa-1, todas ellas interactúan a través de interacciones homotípicas de tipo PYD o de tipo CARD. El único inflammasoma en el cual no participa la ASC es en el NLRC4 debido a que su receptor contiene un dominio CARD a través del cual interactúa de manera directa con la caspasa-1; y en el caso del inflammasoma NLRP1, el receptor tiene un dominio CARD en su C-terminal a través del cual puede interactuar directamente con la caspasa-1 o la caspasa-5 y un dominio PYD en su N-terminal en el cual pudiera unirse de manera homotípica PYD a la ASC la cual se une luego a la caspasa-1 a través de su dominio CARD.

re la liberación de citocromo C y la activación de la enzima caspasa-3, además del edema de la célula, la formación de poros y la lisis celular así como la liberación de la caspasa-1 (18).

MECANISMO INICIAL DE ACTIVACIÓN DEL INFLAMASOMA

Se han propuesto tres modelos para explicar la activación del inflammasoma: con respecto al primero, numerosos estudios han sugerido que el eflujo del ion potasio (K^+), es una señal necesaria para la activa-

ción del NLRP3 (19); ya que el ión potasio (K^+) disminuye su concentración intracelular de 150 mM a 70 mM, debido a que sale de la célula a través de un canal iónico ubicado en la superficie celular denominado P2X7 (también conocido P2X7R), el cual es activado por los altos niveles de ATP extracelular o por ribosilación de ADP, la cual es una situación que se presenta en las células en necrosis y/o apoptosis como señal de peligro (20-24). Adicionalmente, la unión del ATP a los receptores P2X7 permite el reclutamiento del hemicanal panexina-1 y de manera posterior formar un gran poro, a tra-

vés del cual ingresan los productos bacterianos como el lipopolisacárido (LPS) al citosol y la subsecuente activación del inflammasoma (25, 26). Aunque otros estudios han demostrado que un cambio en la concentración iónica general del medio intracelular está implicado con la activación del inflammasoma (19).

Sin embargo, Silverman y col. contradijeron este modelo ya que reportaron otro mecanismo en el cual, los niveles elevados de potasio (K^+) extracelular provocan la apertura del canal de panexina-1, que posteriormente desencadenan la activación de caspasa-1 por el inflammasoma NLRP1 en las neuronas y los astrocitos de rata (27).

Este modelo también se aplica para la activación del inflammasoma mediante la formación de poros derivados de las proteínas formadoras de poro como la α -toxina de *Staphylococcus aureus* los cuales permiten el eflujo de potasio del interior celular y la activación del inflammasoma (24, 28).

A nivel del sistema nervioso se ha demostrado que el ATP se une a los receptores purinérgicos P2X7R y P2X4R, y es un estímulo potente para la activación de caspasa-1 dependiente del inflammasoma NLRP3 y NLRP1 (29). El receptor P2X4 se encuentra expresado en los diversos tipos de células del sistema nervioso tanto central como periférico, así como en los tejidos del músculo liso de la vejiga urinaria, del tracto gastrointestinal, del útero, del epitelio de los conductos glandulares y de las vías respiratorias. Los receptores P2X4R y P2X7R, interactúan formando homotrímeros en la membrana plasmática de las microglías y los macrófagos, aunque otros reportes experimentales han obtenido evidencia de la formación de heterotrímeros entre P2X4R/7R en las células de los riñones embrionarios humanos y en los cultivos primarios de los macrófagos derivados de la médula ósea (30).

El segundo modelo propuesto es el de los fagocitos, que ingieren el material cris-

talizado endógeno o exógeno y las proteínas agregadas debido a que estos materiales una vez fagocitados son procesados de manera ineficiente y causan la desestabilización del compartimiento ácido lisosomal y la ruptura del mismo, y se libera la proteasa lisosomal cathepsina B, la cual es detectada por el NLRP3 y produce la activación del inflammasoma (19, 24, 31).

En el tercer modelo, la generación de las especies reactivas de oxígeno (ROS) de corta duración es considerada como crítica para la activación del inflammasoma, ya que induce un cambio conformacional en la proteína TXNIP (proteína de interacción con tioredoxina), la cual en condiciones de reposo interactúa con la proteína tioredoxina (TRX). Luego de un incremento en la concentración de ROS, la proteína TXNIP es liberada de la TRX y se une al NLRP3 y produce la activación del inflammasoma. Bajo condiciones normales el hospedador está protegido del efecto tóxico de las ROS y de las especies reactivas de nitrógeno (RNS) a través de los antioxidantes intra y extracelulares y las especies secuestradoras de radicales de oxígeno; sin embargo cuando estos sistemas de defensa están saturados la célula sufre "estrés oxidativo". La principal fuente de ROS celular es la mitocondria y pueden ser derivadas de una variedad de procesos fisiológicos como el desacoplamiento de la citocromo oxidasa P-450, la respiración mitocondrial, la activación de xantina oxidasa, la peroxisoma oxidasa o las NADPH oxidasas y diversas condiciones de estrés que incluye el incremento en las tasas metabólicas, la hipoxia o el daño de la membrana que inducen la producción de ROS mitocondrial (19, 24, 32-34).

ELEMENTOS DEL INFLAMASOMA

NLRP1

El NLRP1 también conocido como NALP1, es el sensor de las señales de activa-

ción de la respuesta inmune innata y está expresado en muchos tipos de células inmunocompetentes en particular las células de Langerhans de la piel (35). Sus variantes están asociadas a la susceptibilidad a padecer enfermedades autoinmunes asociadas al vitíligo y enfermedades inflamatorias. El inflammasoma NLRP1 es el único cuya proteína receptora contiene un dominio PYD N-terminal y un CARD C-terminal, dos dominios de muerte que forman un ramillete implicado en las interacciones homotípicas. En contraste con otras proteínas NLRP, el dominio CARD de NLRP1 parece ser más esencial que el PYD para el reclutamiento de procaspasa-1 y se ha demostrado que el NLRP1 se asocia directamente con procaspasa-1 a través de CARD en ausencia del adaptador ASC, así también puede reclutar y activar la caspasa-5 a través del mismo dominio. Además, en su región C-terminal se encuentra un dominio FIIND (dominio con función por encontrar), el cual está ubicado entre el LRR y el dominio CARD (19, 36).

El NLRP1 y su homólogo murino Nlrpb1 tienen un dominio NACHT que junto con el dominio FIIND facilitan la autoasociación. En ese sentido, los experimentos de Finger y col. (37) demostraron que gracias al dominio FIIND, el cual sufrió un proceso de autoproteólisis dentro de la proteína receptora NLRP1, es lo que permitió que este receptor fuera capaz de responder y ensamblar el inflammasoma NLRP1, en respuesta a la infección con PAMPs de distintos organismos. Luego de la escisión proteolítica de la proteína NLRP1 se produjeron dos fragmentos polipeptídicos, los cuales permanecieron autoasociados hasta que ocurrió el reclutamiento de la proteína ASC por el dominio CARD del receptor NLRP1 que ya había sido procesado. Estos autores también confirmaron que aparte de la asociación de la ASC con el sensor citoplasmático NLRP1, la modificación postraduccional de la serina 1213 y el residuo del ami-

noácido histidina 1186 presentes en el dominio FIIND de la proteína NLRP1, era el evento molecular que dirigía la regulación en la activación del inflammasoma NLRP1 (37).

El Nlrpb1 detecta la actividad proteolítica de la toxina letal del ántrax (LeTx), mientras que el NLRP1 detecta tanto el LeTx como el muramildipéptido (MDP) presente en micobacterias en presencia de ATP, sin embargo se cree que la activación del NLRP1 por acción del muramil dipéptido es indirecta ya que requiere de la interacción con la proteína NOD2 para unirse al ATP y activar el inflammasoma, ya que se ha demostrado que la interacción de NLRP1 con procaspasa-1 requiere de la presencia de NOD2 (36, 38-41). También se ha demostrado que el inflammasoma NALP1 tiene un papel crucial en mediar la expresión de las citoquinas inflamatorias durante la infección con *Toxoplasma gondii* (42).

Por otra parte, De Rivero y col. (6) demostraron *in vivo* que el inflammasoma NALP1 neuronal es un complejo multiproteico que consiste de la caspasa-1, la caspasa-11, el NALP1, la proteína adaptadora ASC y la proteína adaptadora de la apoptosis XIAP-1. Este inflammasoma tiene un inminente rol luego de la injuria de la medula espinal de rata que activa la plataforma molecular que origina el incremento de la caspasa-11 y de la proteína ASC, así como el procesamiento de la caspasa-1 y la posterior maduración de la IL-1 β y la IL-18 en un proceso dependiente de la salida de iones K⁺. No obstante, Liu y col. previamente reportaron que la activación del inflammasoma NALP1 recombinante en las neuronas granulares del cerebelo resultó en la activación de la caspasa-3 con la consiguiente apoptosis (43).

NLRP2

La proteína NLRP2 también conocida como NALP2, NBS1, PAN1 y PYFAF2, es un

sensor citoplasmático de 1062 aminoácidos que forma un complejo multiproteico con la proteína adaptadora ASC y la caspasa-1, el cual se expresa en diversos tipos de tejidos y órganos tales como el pulmón, la placenta, el timo, los ovarios, el intestino, el corazón y el cerebro. Este inflamasoma interactúa con el receptor P2X7 y de manera gradual forma un gran poro en la membrana por el reclutamiento del hemicanal panexina-1, que permite el ingreso de productos bacterianos como el lipopolisacárido (LPS) al citosol y la subsecuente activación del inflamasoma NLRP2 (44-46).

Otro hallazgo en relación a esta plataforma molecular es que también puede ser estimulado por la presencia de interferones (IFN), y en el mismo orden de ideas Minkiewicz y col., explicaron resultados relacionados con la activación de este inflamasoma en respuesta al incremento en los niveles de ATP extracelular en los astrocitos corticales de humanos (44-46), sin embargo aún faltan por describir las funciones ejercidas por el NLRP2 en los procesos inflamatorios.

Estudios previos de inhibición de la actividad del NLRP2 por el agente uricosúrico probenecid y el antagonista del receptor P2X7 azul brillante G (BBG), demostraron una disminución en los niveles del inflamasoma NLRP2 y de la caspasa-1, y evidenciaron la importancia de este complejo macromolecular en la respuesta inflamatoria del sistema nervioso central y su utilidad como blanco quimioterapéutico ante lesiones cerebrales originadas por una inflamación (46).

Por otra parte Conti y col. (47), argumentaron que la activación del TCR (receptor de las células T) por los anticuerpos anti CD3, anti CD28 y los compuestos acetato forbol miristato (PMA) e ionomicina indujeron la sobreexpresión del inflamasoma NLRP2 en las células T, el cual a su vez inhibió la activación de los factores de transcripción NFAT, AP-1 y NF- κ B (48, 49).

NLRC4

El inflamasoma NLRC4 o IPAF (factor de activación de proteasa convertidor de interleuquina) contiene un receptor denominado NLRC4, el cual es una proteína que pertenece a la familia NLR y contiene un dominio N-terminal CARD que interactúa con el dominio CARD de la procaspasa, un dominio central NOD y un dominio C-terminal LRR (2, 50, 51).

Se ha demostrado que este inflamasoma activa la caspasa-1, en respuesta a un dominio conservado en la proteína bacteriana flagelina, así como al componente conservado tipo varilla del sistema de secreción tipo III denominado PrgJ en *Salmonella enterica* Serotipo Typhimurium (50) sin embargo, Franchi y col. (2) manifestaron que la activación del inflamasoma NLRC4 requería de la presencia simultánea de un sistema de secreción intacto tipo III (T3SS) o tipo IV (T4SS) necesario para el ingreso de los factores de virulencia bacterianos y de pequeñas cantidades de flagelina; en particular se ha demostrado que es una región en el extremo C-terminal de flagelina la que activa el inflamasoma a través del receptor NLRC4 (51).

Para la activación del inflamasoma NLRC4, en algunos casos requiere la presencia de una segunda proteína NLR denominada NAIP5 (ejemplo: en respuesta a *Legionella pneumophila*), la cual se cree que heterooligomeriza con NLRC4 (50); la proteína NAIP5 contiene tres dominios repetidos de la proteína inhibidora de la apoptosis de baculovirus (BIR) en el N-terminal (16).

NLRP3

El inflamasoma mejor caracterizado es el NLRP3 y comparado con los inflamasomas NLRC4, NLRP1 y AIM2, el NLRP3 es el único activado por innumerables estímulos, el cual en condiciones de reposo se encuentra localizado en el citosol celular y es el

principal implicado como sensor de la injuria estéril (14).

En la revisión realizada por Wen y col. (52), estos autores señalaron que la mitocondria de la célula, cumple una función importante en la activación del inflammasoma NLRP3, la cual se organiza en 2 categorías: La primera es que la mitocondria es el andamiaje sobre el cual se ensambla el complejo molecular denominado el inflammasoma NLRP3. La segunda es que la proteína NLRP3 es activada por distintas moléculas efectoras producidas o liberadas por la mitocondria tales como: las especies reactivas de oxígeno mitocondrial, el ADN mitocondrial y el fosfolípido cardiolipina (52).

Una vez que ocurre la activación del inflammasoma NLRP3, se lleva a cabo una relocalización del receptor NLRP3 que inicialmente se encontraba en reposo, desde el citosol hacia la mitocondria, hecho demostrado a través del análisis de datos bioquímicos y de imágenes de microscopía. La relocalización del receptor NLRP3 activado a la mitocondria es llevado a cabo, con la participación de los 6 primeros residuos de aminoácidos ubicados en el extremo N-terminal del dominio PYD de la proteína NLRP3, el cual es esencial en la modulación y regulación óptima de la actividad de este inflammasoma (52).

De igual manera, Wen y col. manifestaron que otros autores habían reportado que la interacción entre la proteína adaptadora de la señalización antiviral y mitocondrial (MAVS) con el receptor NLRP3, era la responsable de su asociación con la mitocondria en los macrófagos murinos expuestos al ATP y la nigericina (52).

El inflammasoma NLRP3 es un complejo de señalización que activa la procaspasa-1 e induce el procesamiento de las citoquinas inflamatorias dependientes de caspasa-1 (particularmente IL-1 β e IL-18) (28, 52, 53). Este inflammasoma se encuentra en las

células del sistema inmune innato como los macrófagos y las células dendríticas (54).

El inflammasoma NLRP3 está constituido por la proteína receptora NLRP3 (también conocida como NALP3 y criopirina), la ASC y la caspasa-1. La oligomerización de NALP3-ASC resulta en el reclutamiento de la procaspasa-1 en el complejo, lo cual promueve el corte de la misma en un mecanismo auto catalítico para generar el heterodímero activo de caspasa-1 compuesto por dos subunidades activas (17).

Estudios previos sugirieron que NLRP3 está secuestrado por dos proteínas: la SGT1 (supresora del alelo G2 del gen *Skp1* homólogo de la proteína p19 del ciclo celular) y la HSP90 (proteína del choque térmico 90), en una conformación autoinhibitoria en el estado de reposo; tras la estimulación del NLRP3 a través del dominio LRR, éste experimenta una autooligomerización dependiente de ATP, mediada por su dominio intermedio NOD, luego ocurre la interacción homotípica entre los dominios N-terminal PYD del NLRP3 y la ASC y a continuación entre los dominios CARD de la ASC y de la procaspasa-1 para formar un complejo de alto peso molecular que conduce al autocorte y la activación de la caspasa-1 (19).

Se han propuesto muchos mecanismos para explicar la inducción de la activación del inflammasoma NLRP3, en respuesta a numerosos estímulos proinflamatorios que incluyen las moléculas derivadas de patógenos, los inductores endógenos de inflamación y las toxinas microbianas no patógenas formadoras de poro como la nigericina y la maitoxina (25, 28).

El inflammasoma NLRP3 también puede ser activado en respuesta a una diversidad de factores derivado del hospedador, indicativos de estrés e injuria como el ATP extracelular y el hialuronato, las fibrillas de β -amiloides, una elevada concentración de glucosa plasmática y los cristales de urato monosódico (MSU), de pirofosfato de calcio

y de colesterol, así como un número importante de sustancias ambientales como la sílica, los asbestos y el adyuvante hidróxido de aluminio, asimismo se ha encontrado que la exposición a la radiación ultravioleta tipo B (UVB) o a sustancias químicas irritantes que causan hipersensibilidad por contacto también inducen la respuesta dependiente del inflamasoma (19, 55).

Las moléculas sensoras del inflamasoma conectan con la caspasa-1 a través de la ASC. La ASC tiene un dominio pirina y un dominio para el reclutamiento de la caspasa (CARD) e interacciona con las moléculas sensoras proximales por el dominio pirina. El resultado es la conglomeración de numerosos dímeros de ASC y mediante su dominio CARD atrae los monómeros de procaspasa-1, para iniciar así la autoactivación heterotetramérica de la caspasa-1. A su vez la caspasa-1 activa la pro-IL-1 β y pro-IL-18 a sus formas maduras (40, 56-58).

AIM2

El inflamasoma AIM2, reconoce el ADN doble banda derivado de virus y de bacterias patógenas en el citoplasma de los macrófagos infectados a través del receptor ALR. ALR es un receptor citosólico perteneciente a la familia PYHIN (familia de proteínas que contienen dominio pirina y dominio HIN), donde se encuentra un dominio PYD N-terminal que media la interacción homotípica con la ASC y en su C-terminal una o dos copias del dominio de unión a oligonucleótido HIN-200, el cual puede unirse directamente al ADN del patógeno; una vez oligomerizado el receptor con la proteína adaptadora ASC ocurre el agrupamiento de la procaspasa-1 y su activación para producir la maduración de las interleuquinas proinflamatorias IL-1 β e IL-18 (49, 59-62).

Los dominios HIN de esta familia de proteínas, son exclusivos de los mamíferos y consisten en una serie aleatoria de bolsillos de unión a oligonucleótidos y a oligosacári-

dos los cuales interactúan con los ácidos nucleicos (63, 64).

Este tipo de inflamasoma ha demostrado ser esencial para la defensa contra *Francisella tularensis*, *F. novicida* y *Listeria monocytogenes* así como para citomegalovirus y vaccinia. El AIM2 también se ha reportado como supresor de tumores y de las funciones que promueven la aparición de estos tanto en mama como en colon y recto (65, 66).

MADURACIÓN DE CITOQUINAS PRO-INFLAMATORIAS

Las citoquinas son proteínas solubles (aproximadamente de 25 kDa), secretadas por varios tipos de células. Éstas además son liberadas en el cuerpo en respuesta a la activación por caspasas e inducen una respuesta a través de receptores específicos. Las distintas citoquinas desarrollan funciones complementarias y las combinaciones de varias de ellas, son necesarias para determinar la naturaleza de la respuesta (citotóxica, humoral, celular o alérgica), la ausencia de la misma o la supresión del sistema inmune de forma óptima (67). Los monocitos y los macrófagos son células del sistema inmunológico que se encuentran presentes a lo largo de todo el cuerpo; su función principal durante el inicio y propagación de la respuesta inflamatoria es la producción de las citoquinas pro-inflamatorias IL-1 β , IL-18 y Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF- α), así como de los mediadores inflamatorios óxido nítrico y las prostaglandinas. Las IL-1 β e IL-18, son miembros de la superfamilia de citoquinas IL-1, las cuales promueven diversos procesos asociados con la infección, la inflamación y la autoinmunidad (68).

La IL-1 β es una citoquina clave en diversas respuestas del sistema inmune y es sintetizada como precursor citoplasmático inactivo (pro-IL-1 β) de 35 kDa, que poste-

riormente debe ser escindido en el residuo de ácido aspártico 116 para generar la forma pro-inflamatoria y bioactiva p17 (13). La enzima convertidora de interleuquina 1 β (ICE), mejor conocida como caspasa-1 es la responsable de dicha maduración. Una vez que la IL-1 β es secretada, participa en la generación de respuesta inmunológica local y sistémica contra diversas clases de patógenos y su implicación en la fisiopatología de diversas enfermedades inflamatorias resalta su papel en la evolución de un proceso inflamatorio (68).

Al igual que la IL-1 β , la IL-18 es una citoquina pro-inflamatoria perteneciente a la familia IL-1 de citoquinas. A diferencia de la IL-1 β , esta es producida de manera constitutiva por casi todas las células de animales y humanos sanos. Se produce en forma de precursor inactivo (pro-IL-18) de 24 kDa y debe sufrir un procesamiento enzimático para producir la proteína bioactiva de 17 kDa el cual es llevado a cabo principalmente por la caspasa-1 intracelular como consecuencia de la activación de los inflamasomas (69).

Luego de procesada, solo el 20% de la IL-18 es secretada de los monocitos y los macrófagos y el resto sigue sin ser procesada en el citosol celular. Entre las funciones reseñadas para esta citoquina está su implicación en diversas enfermedades autoinmunes, daño al miocardio, sepsis e inflamación renal aguda, en las cuales promueve el aumento de la expresión de las moléculas de adhesión y la síntesis y producción de óxido nítrico y de quemoquinas. La IL-18 cumple una función muy importante en las células T y NK (*natural killer*) ya que induce la síntesis de IFN- γ (69).

ACTIVACIÓN CANÓNICA Y NO CANÓNICA DEL INFLAMASOMA

Los mecanismos de activación de la caspasa-1 que desencadenan los diferentes

tipos de inflamomas son complejos, diversos y llevan a la inducción y secreción de la IL-1 β y genera la inflamación y la muerte celular de tipo piroptosis (60, 70).

Las caspasas son proteínas con actividad cisteína-proteasa, la cual hidroliza en residuos de aspartato específicos. Las caspasas están implicadas en eventos de apoptosis e inflamación. Estas se clasifican en tres clases denominadas caspasas iniciadoras (caspasa-2, 8, 9 y 10), las cuales detectan señales de peligro; caspasas ejecutoras (caspasa-3, 6 y 7) desencadenantes de la muerte celular y una tercera clase que abarca a las caspasas-1, 4, 5 y 12 en humanos involucradas en procesos inflamatorios (71, 72).

Estas proteasas se sintetizan como zimógenos inactivos de una sola cadena polipeptídica, que son activadas por corte proteolítico. La caspasa-1, es activada de forma similar a las caspasas iniciadoras por los complejos denominados inflamomas (71, 72).

La activación de los inflamomas se encuentra dirigida por dos señales: una preestimuladora a través de los receptores Toll y una estimuladora dirigida por las proteínas NLR. Los mecanismos de activación de los inflamomas se encuentran descritos aunque faltan detalles, debido a la escasa evidencia experimental que permita definir los principios mecánicos y la cinética de reacción desencadenante del ensamblaje de los mismos, la activación de la caspasa-1 y el posterior procesamiento y maduración de las citoquinas proinflamatorias y así como las señales adicionales indicadoras de inflamación.

Hasta los momentos se conoce que estas plataformas moleculares se ensamblan después que sensores moleculares detectan los PAMPs de virus y bacterias, además de las señales de peligro o de estrés las cuales son llamadas patrones moleculares asociados a daño DAMPs y que son capaces de in-

ducir una respuesta inflamatoria mediada por los inflamasomas (25, 72).

Luego del ensamblaje del inflamasoma, la caspasa-1 es activada y se encarga de madurar mediante proteólisis a la pro-IL-1 β y a la pro-IL-18. La IL-1 β procesada carece de péptido señal, pero aun así, ésta es secretada por un mecanismo no convencional distinto a la ruta clásica de retículo endoplásmico-aparato de Golgi. Este mecanismo aun no descrito también permite la secreción de la caspasa-1 y de otras proteínas que participan en la inflamación y reparación tisular (72).

En la actualidad existen dos nodos de señalización utilizados por los inflamasomas: canónica y no canónica descritos en la literatura. En la vía canónica (Fig. 2), la activación del inflamasoma se encuentra precedida por la formación de un complejo ma-

cromolecular que involucra los tres componentes (NLRP3, ASC y procaspasa-1) y la posterior secreción de las citoquinas pro-inflamatorias IL-1 β e IL-18 (66).

En la activación no canónica del inflamasoma no están implicados los tres componentes canónicos. En ese sentido, la vía no canónica se encuentra dirigida por la caspasa-11 (Fig. 3), la cual induce apoptosis y secreción de IL-1 α e IL-1 β en respuesta a las bacterias gram negativas como *Escherichia coli* y *Vibrio cholerae* y a sus toxinas bacterianas como la subunidad B de la toxina del cólera (73, 74).

Otra singularidad de la vía no canónica de activación dependiente de caspasa-11 es que no implica la participación de los sistemas de secreción que permitan la liberación de PAMPs en el citosol del hospedador, sino que requiere la señalización mediada

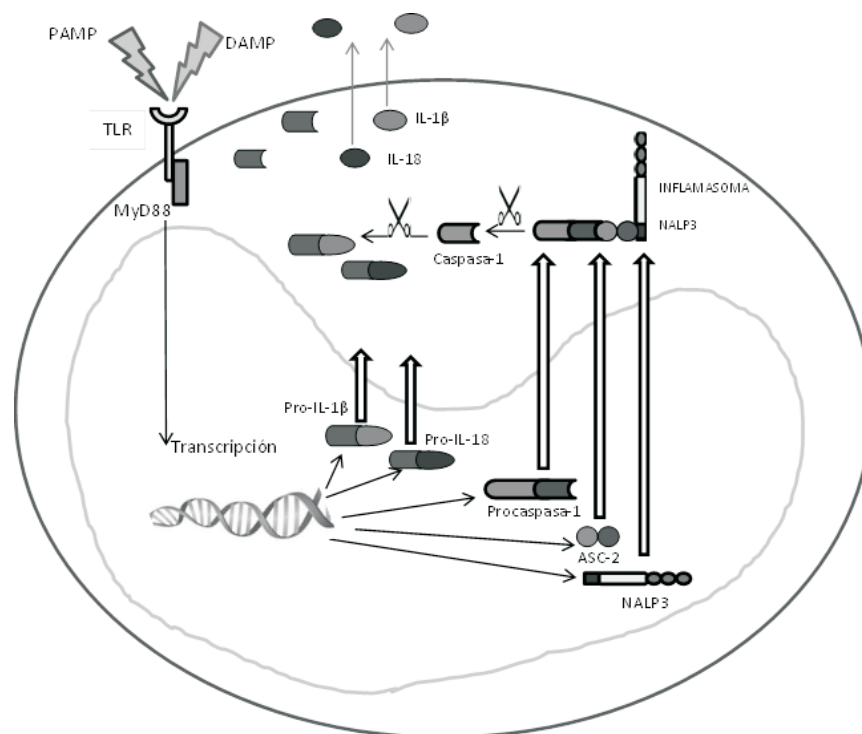


Fig. 2. Activación canónica del inflamasoma: Los componentes del inflamasoma pueden ser ensamblados sólo después que la proteína sensora NLRP3 se activa con la interacción de su dominio LRR con cristales (MSU), ROS o alguna otra especie microbiana. El ensamblaje de los dominios conduce a la liberación de la caspasa-1 funcional, que activa a la IL-1 β a través de la pro-IL1 β y esta desencadena la inflamación.

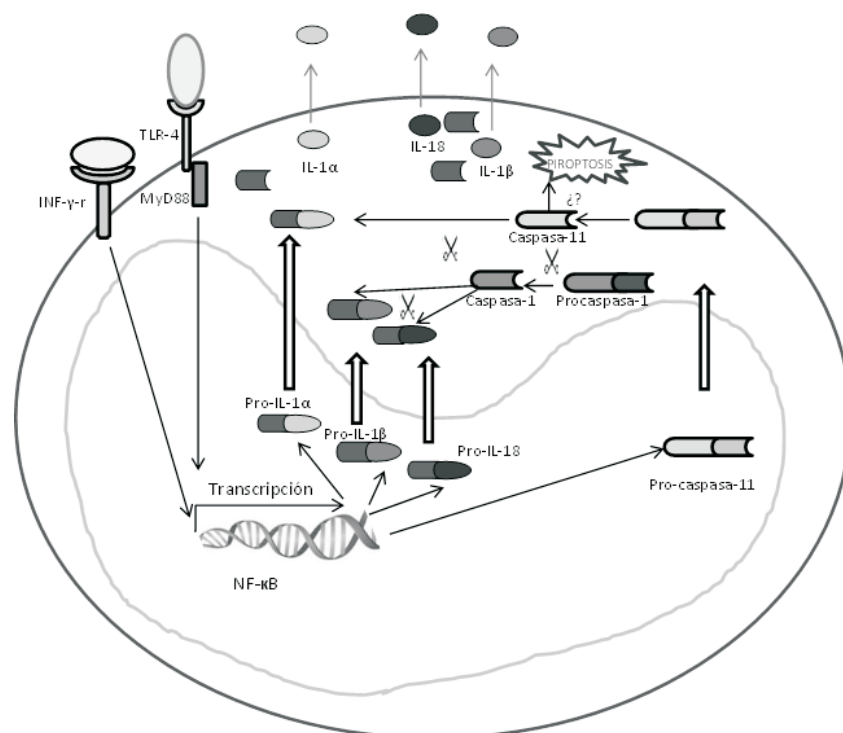


Fig. 3. Activación no canónica del inflammasoma mediada por caspasa-11: La caspasa-11 activa actúa en conjunción con los componentes del inflammasoma NLRP3, y estimula la maduración de pro-IL1 β y pro-IL18 dependiente de caspasa-1. Caspasa-11 activada, también induce la lisis celular, secretando señales de peligro como IL-1 α y HMGB1. La detección de bacterias Gram negativas a través de TLR4, estimula la transcripción de NF κ B y posteriormente la expresión de pro-IL1 β y pro-caspasa-11. Pro-caspasa-11 se auto-activa, muy probablemente al alcanzar una concentración crítica.

por TLR4 inducida por LPS, a través de la proteína adaptadora contentiva de un dominio TIR (región homóloga del receptor Toll/Interleuquina-1) inducible por IFN β (TRIF) para la concomitante producción de interferón dependiente de la proteína TRIF (73, 74).

Esta señalización mediada por los interferones cumple un papel importante en la regulación y activación de la caspasa-11, sin embargo, los mecanismos moleculares implicados en los mismos no se encuentran definidos. Entre las funciones celulares llevadas a cabo por la caspasa-11 después de su activación por la vía no canónica están: la activación de la caspasa-1 dependiente de NLRP3 y la posterior secreción de la IL-1 β , la IL-18 y la piroptosis; aunque también se

ha descrito otro mecanismo de activación, dependiente de caspasa-11 sin la participación de NLRP3 que es capaz de generar choque séptico inducido por LPS (73, 74).

Las toxinas bacterianas y el LPS figuran como los principales activadores del inflammasoma, ya que en los ratones se ha descrito la ruta de activación de la caspasa-11 mediada por la caspasa-11 en presencia de estos estímulos. La interacción de la caspasa-11 con la proteína Aip1 (proteína que interactúa con la proteína ASK1), es capaz de promover la despolimerización de actina con la ayuda de cofilina, como evento molecular de activación del inflammasoma, el cual desencadena un incremento en la fusión de lisosomas a fagosomas y para liberar el ARN mensajero bacteriano al citosol para activar

el inflamasoma NLRP3; sin embargo la función precisa de caspasa-11 durante el ensamblaje del inflamasoma sigue sin ser definida. Los análisis de la expresión proteica han permitido identificar a la caspasa-4 y la caspasa-5 como los homólogos humanos de la caspasa-11 en ratones (71), sin embargo aún faltan datos experimentales que permitan la caracterización de las proteínas caspasas humanas 4 y 5 (73).

Los estudios experimentales en ratones con deleciones del gen Caspasa-11 presentaron fenotipos muy similares al mostrado por las deleciones del gen Caspasa-1, sin embargo varios autores han reportado que la expresión de la caspasa-11 solo se requiere para la secreción inducida de la IL-1 β (72).

Los estudios experimentales dirigidos a dilucidar la función de la caspasa-4 en la activación del inflamasoma, indican que hay un aumento de su expresión y liberación en la epidermis y en los queratinocitos que son expuestos a radiación UV, este aumento está influenciado por la expresión de la caspasa-1. La caspasa-4 actúa en las fases previas de maduración de la caspasa-1, a diferencia de la caspasa-11 cuya expresión solo se requiere para la activación no canónica del inflamasoma, la cual diversos autores han señalado como el efector crítico en la evolución de una respuesta inflamatoria (71, 72).

A pesar de que la caspasa-1 y la caspasa-11 inician los mismos eventos como la lisis celular, el procesamiento, la liberación de citoquinas y de señales de alerta como marcadores pronóstico de un proceso inflamatorio, los mecanismos subyacentes a su activación difieren de manera significativa (75). La activación de la caspasa-1 por estímulos canónicos induce a la piroptosis; aunque se ha encontrado que la activación de caspasa-11 también desencadena la lisis de la célula, pero este tipo de muerte celular tiene características propias que la dife-

rencian de la piroptosis provocada por caspasa-1 (76, 77).

De igual manera, Broz y col. (75) concluyeron que la caspasa-11 carecía de la capacidad de escindir las citoquinas proinflamatorias, ya que observaron que los macrófagos deficientes de las proteínas NLRP3, ASC y caspasa-1, activaron a la caspasa-11 e iniciaron la apoptosis, sin embargo no pudieron liberar a la IL-1 β y la IL-18 al espacio extracelular, lo cual sugirió que la caspasa-11 funciona en conjunto con el inflamasoma NLRP3 para promover la maduración de las citoquinas más no su liberación, el cual es un aspecto resaltante de los mecanismos de actuación de los inflamasomas que acentúan su versatilidad y diversidad de funcionamiento.

Otra diferencia entre la activación canónica y no canónica, es la liberación de la IL-1 α y la señal endógena de peligro HMGB1 (proteína de elevada movilidad electroforética). La liberación de la IL-1 α y de la proteína HMGB1 a través de la activación canónica de los inflamasomas requiere la participación de la caspasa-1 activa, sin embargo, la caspasa-1 no es necesaria para la liberación de estos mediadores solubles en respuesta a *E. coli* y a la toxina B del cólera (CTB). Este resultado sugiere que la lisis celular es el mecanismo de liberación de estos factores, después que se encuentra activada la caspasa-11 (75).

En investigaciones futuras debe evaluarse la participación de la caspasa-11 como una proteína que promueve la liberación de ciertos mediadores inflamatorios como los eicosanoides y los factores de crecimiento, lo cual resalta el surgimiento de los mecanismos alternativos de activación no canónica de los inflamasomas y su posible inhibición a través de terapias en pacientes con exacerbada respuesta inflamatoria.

En las células dendríticas, la expresión, la maduración y la secreción de la

IL-1 β son reguladas como parte de la respuesta inmune. Sin embargo se conoce poco acerca de los mecanismos moleculares alternativos, que controlan la producción de IL-1 β mediante la activación no canónica de los inflamasomas en las células dendríticas expuestas a un agente infeccioso.

En ese sentido, Gringhuis y col. (78) demostraron que la caspasa-8 participa en otra vía de activación no canónica del inflammasoma y es el factor clave que puede mediar en el procesamiento de prointerleuquina-1 β .

Esta ruta alterna de activación, se inicia con el reconocimiento de PAMPs de hongos y micobacterias por la proteína extracelular Dectina-1 expresada en la superficie de las células dendríticas, que da inicio a la formación y al ensamblaje de un com-

plejo macromolecular compuesto por: proteína-quinasa SYK, la proteína de translocación de linfoma de tejido linfoide asociado a la mucosa 1 (MALT1) y la proteína adaptadora ASC a través de interacciones proteína-proteína; este complejo se encarga de reclutar a la caspasa-8 para el procesamiento de sus sustratos proteicos. El complejo MALT1-ASC-Caspasa-8 (Fig. 4) lleva a cabo la proteólisis de pro-IL-1 β .

A pesar que esta plataforma molecular contiene la molécula adaptadora canónica ASC, la presencia de las proteínas MALT1 y Caspasa-8, aunado al hecho de que el mecanismo de activación de este inflammasoma sea independiente de la internalización del patógeno, hacen que el mismo sea denominado “inflammasoma caspasa-8 no canónico” (78).

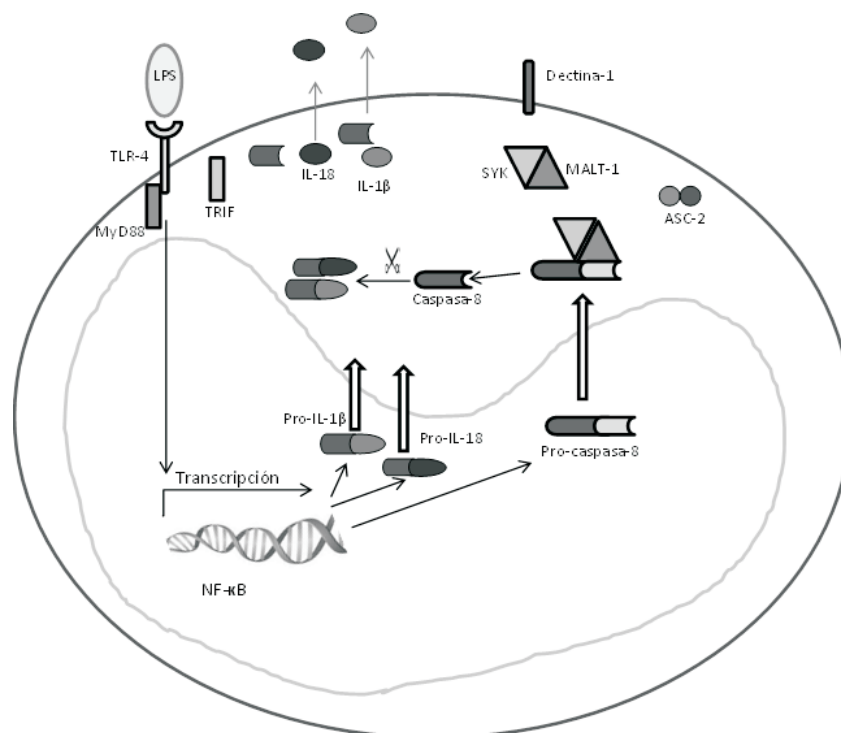


Fig. 4. Activación no canónica del inflammasoma mediada por caspasa-8: La plataforma molecular formada por MALT1-ASC-Caspasa-8, se encarga del procesamiento de pro-IL1 β dependiente de caspasa-8. En contraposición con el inflammasoma canónico, el cual requiere de receptores citosólicos, el inflammasoma caspasa-8 no depende de la internalización del patógeno, siendo el receptor Dectina-1 el encargado de inducir la producción y maduración de IL-1 β por caspasa-8.

Otro aspecto interesante en los diversos mecanismos de activación del inflamasoma es que no existe una molécula sensora citoplasmática única, ya que existen receptores de superficie capaces de iniciar el proceso y por ende procesar la pro-IL-1 β (Tabla I). En ese sentido, existe otra vía de activación no canónica del inflamasoma que se inicia con la señalización con el ácido poliI: poliC y el LPS en los macrófagos a través de la proteína adaptadora con dominio TIR inducible por IFN- β , la cual interactúa con el dominio TIR citoplasmático asociado a los receptores transmembrana 3 y 4 (79).

Luego de la activación del inflamasoma a través de los receptores Toll 3 y 4 o de CD95, se inicia la activación de caspasa-8 que llevará a la posterior escisión y al procesamiento de la IL-1 β y la IL-18, la cual es independiente de los inflamasoma convencionales y de la caspasa-1 (79).

Otro hecho para reseñar durante la activación del inflamasoma es la existencia de diversos mecanismos regulatorios (fosforilaciones, desfosforilaciones, silenciamiento génico, bucles de retroalimentación) que buscan modular o resolver estados de exacerbación de la activación del inflamasoma. En la actualidad, existe un enorme interés en el estudio de los diferentes inflamasomas, en cuanto a su mecanismo de acción y su relación con las diversas patologías inflamatorias humanas, así como en el desarrollo de terapias apropiadas que permitan co-

nocer los mecanismos que modulan estos procesos inflamatorios.

REGULACIÓN INTRACELULAR Y EXTRACELULAR DE LOS INFLAMASOMAS

La inflamación es un proceso estrictamente regulado y el sistema inmune innato debe integrar múltiples señales para determinar si este proceso será iniciado. Esta coordinación es particular en la vía que conduce al procesamiento de la citoquina proinflamatoria IL-1 β por parte de los inflamasomas (80).

La regulación en la maduración de IL-1 β y la activación de los inflamasomas, es llevada a cabo a través de señales extracelulares e intracelulares tanto positivas como negativas a distintos niveles, con la finalidad de asegurar una rápida y eficiente respuesta inflamatoria ante la presencia de un patógeno o injuria. Un primer nivel de regulación, es la activación incrementada de los inflamasomas por citoquinas y sus receptores a través de la interacción del factor de necrosis tumoral α con su receptor (TNF α -TNFr) así como de la transcripción del gen *NLRP3* en los macrófagos y las células dendríticas ante las señales de peligro como desencadenantes de un proceso inflamatorio (81).

Si bien el ensamblaje del inflamasoma NLRP3 requiere una señal de pre-estimula-

TABLA I
DIFERENCIAS ENTRE INFLAMASOMAS CANÓNICOS Y NO CANÓNICOS

Inflamasomas	Sensores	Condición/Entidades	Respuesta Inflamatoria
Canónico	TLR2, NLRP3.	ATP, LPS, MDP, MSU, Sílica, ARN.	Secreción de IL-1 β e IL-18, piroptosis.
No Canónico	TLR4, IFN γ , TGF β , Dectina-1.	<i>Escherichia coli</i> , <i>Citrobacter rodentia</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , Toxina B del cólera, <i>Francisella</i> sp, hongos, β -glucanos.	Muerte celular, exocitosis de lisosomas, liberación de lactato deshidrogenasa, IL-1 β , IL-18, HMGB1, secreción de IL-1 α , caspasa-1, transición epitelio-mesenquimal, fibrosis intersticial y piroptosis.

ción derivada del reconocimiento de patrones de daño propios o exógenos y de receptores de citoquinas, seguido a su vez de una segunda señal derivada a partir de ATP extracelular, aún no está claro como estas dos señales activan el inflamasoma NLRP3.

Aunque Juliana y col. (82), demostraron que la señalización a través de la interacción de los PAMPs con el TLR4 a través de MyD88 (dominio de la proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide) estimuló la desubiquitinación de NLRP3 pero no su transcripción como señal de regulación en cultivos de macrófagos murinos. Este proceso es dependiente de la producción de las especies reactivas de oxígeno mitocondrial y es inhibida por antioxidantes.

Dichos resultados también demostraron que la señalización por el ATP puede inducir la desubiquitinación de NLRP3 a través de otro mecanismo que no es sensible a los antioxidantes. Los autores además concluyeron que la inhibición farmacológica de la desubiquitinación de NLRP3 bloqueó completamente la activación de NLRP3 tanto en las células de ratón como de humanos, lo que indicó que se requería la desubiquitinación de NLRP3 para su activación. Estos resultados sugirieron que el inflamasoma NLRP3 es activado por un mecanismo de desubiquitinación de dos pasos, iniciado por la señalización del receptor de tipo Toll seguido por la generación de las especies reactivas de oxígeno mitocondrial; todo el proceso de activación es potenciado por el ATP, lo que explicaría como el NLRP3 es activado por diversas señales de peligro (82).

Otros autores también demostraron que la desubiquitinación es una forma de regulación de la activación del inflamasoma NLRP3 como es el caso del complejo citosólico formado por las enzimas BRCC3-BRISC responsable de este mecanismo. El proceso de desubiquitinación elaborado por la proteína BRCC3 (la cual es una metaloprotea-

sa dependiente de Zn^{2+} , perteneciente a la familia de enzimas desubiquitinantes JAMM), se inicia con la remoción de las cadenas de poliubiquitina que están unidas de manera covalente, a los aminoácidos lisina 63 y lisina 48 de las cadenas polipeptídicas presentes en los dominios NACHT y LRR del receptor citosólico NLRP3; la ubiquitinación de estos dominios es realizada por el complejo enzimático, compuesto por las enzimas ubiquitinantes E1, la enzima E2 y la enzima E3, para modular la activación del inflamasoma NLRP3 en estado de reposo (83).

Como se pudo revisar, el umbral de activación de los inflasomas se encuentra regulado por mecanismos de actuación rápida post-traduccionales y de actuación lenta referentes a la transcripción génica de cada uno de los componentes del inflamasoma.

La gran mayoría de los mecanismos de regulación estudiados hasta ahora se han centrado en el inflamasoma NLRP3, sin embargo, otros inflasomas han servido de plataforma para el descubrimiento de diferentes formas de regulación que involucran a proteínas quinasas como es el caso de NLRC4, cuya fosforilación en el residuo de serina (Ser533) llevada a cabo por la proteína quinasa $C\delta$ (PKC δ), es esencial para la formación de dicho inflamasoma, siendo este el primer reporte en el cual se señala que una modificación covalente es activadora de estas plataformas moleculares (84). Aunque la fosforilación de NLRP3 nunca ha sido demostrada, Lu y col. (85), reseñaron que la proteína quinasa dependiente de ARN (PKR) es el regulador clave de la activación de los inflasomas NLRP3, NLRP1, NLRC4 y AIM2.

También se ha encontrado que la fosforilación de la ASC dependiente de las quinasas Syk y Jnk, son primordiales en la formación de multímeros de ASC, necesarias para la activación de los inflasomas (80).

Otro de los mecanismos de regulación del inflamasoma NLRP3, es a través del interferón- γ (IFN- γ) derivado de las células T, el cual disminuye la activación a través de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) debido a que el óxido nítrico (NO) induce la nitrosilación de la proteína NLRP3 e inhibe su actividad (36).

Por otra parte, se ha reconocido que la regulación post-transcripcional mediada por micro-ARNs llevan cabo un control importante en la expresión de los genes inflamatorios. En ese sentido, variaciones en los niveles de transcritos de NLRP3, funcionan como un mecanismo regulador del umbral que pueden tener los inflamasomas en los diferentes tipos celulares. Haneklaus y col. (86), identificaron un pequeño ARN de interferencia mir-223, como un regulador negativo de la activación del inflamasoma NLRP3, el cual se ajusta a los niveles de expresión que éste presenta en las diferentes células inmuno-competentes, dándole un umbral de activación al NLRP3 y así responder ante una infección o una injuria (87).

Como se ha mencionado a lo largo de esta revisión, la formación y la activación de los complejos supramoleculares denominados inflamasomas se encuentra dirigida por interacciones proteína-proteína entre los dominios característicos PYD, CARD y NACHT. Sin embargo, las proteínas con solo dominios PYD denominadas proteínas (POPs) regulan de forma negativa la activación del inflamasoma NLRP3 al interactuar con la ASC y bloquear su interacción con NLRP3 lo cual desencadena en el bloqueo de la activación de la caspasa-1 (86).

Hasta ahora solo se han explicado las señales extracelulares positivas y negativas que regulan la activación del inflamasoma. Sin embargo, las señales intracelulares derivadas del funcionamiento de la célula también son desencadenantes de la activación y/o regulación del inflamasoma. Lee G. y col. (88), demostraron que el receptor sen-

sible al calcio murino (CASR) activó el inflamasoma NLRP3, influenciado por el aumento del Ca^{+2} intracelular y la disminución de AMP cíclico celular (AMPC). Los iones Ca^{+2} u otros agonistas del CASR, activaron el inflamasoma NLRP3 en la ausencia de ATP exógeno, mientras que el *knock-down* del gen CASR redujo la activación del inflamasoma en respuesta a activadores conocidos de NLRP3.

La proteína canal CASR, activó el inflamasoma NLRP3 a través de la fosfolipasa C, que cataliza la producción de inositol-1, 4, 5-trifosfato y por tanto indujo la liberación de Ca^{+2} de sus reservas en el retículo endoplásmico. El aumento de Ca^{+2} citoplasmático promueve el ensamblaje de los componentes del inflamasoma, y el ión Ca^{+2} intracelular se requiere para la actividad del inflamasoma. Tomados en conjunto, estos resultados indicaron que el Ca^{+2} y el AMPC son dos reguladores moleculares claves del inflamasoma NLRP3, que tienen un papel crítico en la fisiopatología de las enfermedades derivadas de una hiperactivación del inflamasoma.

El inflamasoma NLRP3 es regulado de manera positiva por una baja concentración intracelular del ión K^{+} , por el aumento de las ROS, y por la alteración de la membrana del lisosoma, todos estos procesos se ven afectados durante el edema de la célula. Los inflamasomas no sólo regulan células del sistema inmunológico, sino que también son funcionales en otros tipos de células, tales como las neuronas, los queratinocitos, o las células β pancreáticas, y así generar una respuesta efectora integrada.

Una variación en la concentración osmolar del medio, representa una importante y conservada señal de peligro, que en el caso de hipotonía, induce el procesamiento y liberación de IL-1 β . Recientemente, se ha descrito que la activación del inflamasoma NLRP3 por el ácido úrico (MSU) se asocia con el ingreso de agua que conduce a la

hinchazón de la célula. Compan y col. (89), encontraron que una hipo-osmolaridad indujo a un aumento en el tamaño de los macrófagos y a una disminución en la concentración intracelular de los iones K^+ y Cl^- , que activaron la disminución del volumen regulatorio (RVD) controlado por la proteína canal TRP. Este mecanismo demostró, que la disminución intracelular del ión K^+ es necesaria pero no suficiente para inducir la activación del NLRP3.

ENFERMEDADES ASOCIADAS A INFLAMASOMA

La activación continua del inflammasoma puede ser tanto causa como consecuencia de diversas enfermedades (Tabla II), entre ellas se puede mencionar la hiperhomocisteinemia, la cual es un desorden metabólico como resultado de la falla en la eliminación de homocisteína, y se convierte en un importante factor patogénico tanto en la progresión de la etapa final de la enfermedad renal como en el desarrollo de las complicaciones cardiovasculares asociadas a dicha etapa, debido a que el exceso de homocisteína induce a la formación del inflammasoma NLRP3 el cual es una maquinaria molecular intracelular que inicia la respuesta inflamatoria y produce daño de manera directa en los podoci-

tos del glomérulo generando la aparición de esclerosis glomerular (90).

El inflammasoma NLRP3 también se encuentra relacionado con la diabetes tipo II y numerosos estudios han indicado que las células hematopoyéticas de los pacientes con diabetes tipo II tienen alterado el potencial redox y el estrés oxidativo por lo que la concentración de las ROS se encuentra aumentada y se activa el inflammasoma (91).

Otra enfermedad asociada al inflammasoma es la gota, la cual es producida por la precipitación de cristales de MSU en las cavidades sinoviales y en otras localizaciones anatómicas, como resultado se activa el inflammasoma NLRP3, producto de la fagocitosis de dichos cristales y la desestabilización del fagolisosoma (92). Asimismo, los cristales de colesterol activan el inflammasoma por esta vía y está asociado con el desarrollo de la aterosclerosis; además, las lipoproteínas de baja densidad (LDL) son las principales implicadas en la progresión de la aterosclerosis y se acumulan en las capas más profundas de las arterias donde son oxidadas, dicha oxidación depende de las ROS y a su vez este fenómeno induce la generación de las ROS como consecuencia de una retroalimentación positiva que provoca la activación del inflammasoma (93).

TABLA II
ENFERMEDADES ASOCIADAS A LA HIPERACTIVACIÓN DEL INFLAMASOMA

Enfermedad	Activadores	Referencias
Ateroesclerosis	Cristales de colesterol, $IL1\beta$, ROS, Palmitato, ADN mitocondrial.	(94, 95, 96)
Diabetes tipo II	Polipéptido amiloide de los islotes (IAPP), $IL1\beta$, IL-18, NLRP3, ROS.	(91)
Hiper-homocisteinemia	Homocisteína, NLRP3, $IL1\beta$, IL18.	(90)
Gota	$IL1\beta$, Cristales de urato monosódico (MSU).	(97, 98)
Hipertensión Arterial	$IL1\beta$, IL-18, TGF- β , NLRP3, células necróticas.	(99, 100)
Malaria	Cristales de Hemozoína, ADN, AIM2, $IL1\beta$, NLRP3.	(101, 102)

Por otra parte, existe una serie de enfermedades producto de la activación inapropiada del inflammasoma, como consecuencia de la alteración en los genes que codifican las proteínas participantes en el mismo (70), entre ellas se pueden mencionar el síndrome autoinflamatorio frío (CIAS), el síndrome de Muckle-Wells (MWS) y el síndrome neurológico, cutáneo y articular crónico infantil (CINCA), que representan un espectro clínico asociado a mutaciones en el gen *NLRP3* (103); asimismo, se ha descrito la enfermedad de Crohn y el síndrome de Blau, los cuales están asociados a mutaciones en el gen *NOD2*, cuyo producto proteico interactúa con el receptor *NLRP1* (12). La mayoría de las mutaciones descritas para los receptores *NLRP* son dominantes, y estas mutaciones causan la activación continua de estos inflamasomas, debido a que se supera el umbral de autoinhibición (104).

Hasta ahora no se conoce la existencia de enfermedades o síndromes asociados al ensamblaje incorrecto de los componentes del inflammasoma.

El conocimiento de la estequiometría de activación y regulación de los inflamasomas permitirá en un futuro cercano el desarrollo de terapias, que logren modular la inflamación crónica y limitar las vías alternas de activación del inflammasoma que concluyen en la aparición de las diversas patologías, así como en la utilización de terapias génicas que permitan el tratamiento de las mismas. Sin embargo, aún no se define cómo se lleva a cabo la regulación de la expresión de los genes inflamatorios desde el punto de vista epigenético y genético, sus implicaciones en la evolución de las enfermedades asociadas a éstos así como el patrón de herencia y su implicación en la aparición y signos de las enfermedades.

Otra situación que debe evaluarse es la posibilidad de extrapolar los modelos experimentales a los humanos, así como el uso

de inhibidores o antagonistas de $IL-1\beta$ o bien anticuerpos monoclonales dirigidos contra el receptor *IL-1R*. Todas estas aproximaciones experimentales, han aportado resultados prometedores en el tratamiento de diversas criopirinopatías. Se espera que en el futuro pueda explorarse el desarrollo de inhibidores específicos contra el *NLRP3* o la *ASC* que pudieran ofrecer nuevas terapias para el tratamiento de enfermedades asociadas al inflammasoma.

Se puede concluir, que aun cuando falta ahondar en los detalles de los mecanismos bioquímicos y genéticos que participan en el ensamblaje y activación de cada uno de los inflamasomas, se han hecho grandes avances en el conocer las proteínas que constituyen cada plataforma, su mecanismo de activación y la maduración de las interleuquinas inflamatorias a través de vías canónicas y no canónicas, así como la descripción de los modelos que demuestran que las mismas pueden ocurrir de manera simultánea con el propósito de facilitar la eliminación del agente patógeno e iniciar el proceso de curación.

REFERENCIAS

1. Turk JL. Inflammation: John Hunter's a treatise on the blood, inflammation and gun-shot wounds. *Int J Exp Path* 1994; 75: 985-995.
2. Franchi L, Kamada N, Nakamura Y, Burberry A, Kuffa P, Suzuki S, Shaw M, Kim YG, Núñez G. NLRC4-driven interleukin- 1β production discriminates between pathogenic and commensal bacteria and promotes host intestinal defense. *Nat Immunol* 2012; 13(5): 449-456.
3. Kollid D, Velayutham T, Casola A. Host-Viral Interactions: Role of pattern recognition receptors (PRRs) in human pneumovirus Infections. *Pathogens* 2013; 2(2):1-30.
4. Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int Immunol* 2009; 21 (4): 317-337.

5. **Hardison S, Brown G.** C-type lectin receptors orchestrate anti-fungal immunity. *Nat Immunol* 2012; 13(9): 817-822.
6. **De Rivero J, Lotocki G, Marcellio A, Dietrich D, Keane R.** A molecular platform in neurons regulates inflammation after spinal cord injury. *J Neuro Sci* 2008; 28(13): 3404-3414.
7. **Beutler B.** Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signalling. *Nature* 2004; 430: 257-263.
8. **Bromfield J, Sheldon M.** Lipopolysaccharide initiates inflammation in bovine granulosa cells via the TLR4 pathway and perturbs oocyte meiotic progression *in vitro*. *Endocrinology* 2011; 152(12): 5029-5040.
9. **Reynolds J, Martinez G, Chung Y, Dong C.** Toll-like receptor 4 signaling in T cells promotes autoimmune inflammation. *PNAS* 2012; 109 (32): 13064-13069.
10. **Campanholle G, Mittelstadt K, Nakagawa S, Kobayashi A, Lin SL, Gharib S, Heinecke J, Hamerman J, Altemeiers W, Duffield J.** TLR-2/TLR-4 TREM-1 signaling pathway is dispensable in inflammatory myeloid cells during sterile kidney injury. *PLoS One* 2013; 8(7): 1-12.
11. **Turner C, Arulkumaran N, Singer M, Uewin R, Tam F.** Is the inflammasome a potential therapeutic target in renal disease? *BMC Nephrol* 2014; 15 (21): 1-13.
12. **Ting J, Kastner D, Hoffman H.** CATERPILLERS, Pyrin and hereditary immunological disorders. *Nature Rev Immunol* 2006; 6: 183-195.
13. **Martinon F, Burns K, Tschopp J.** The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell* 2002; 10: 417-426.
14. **Sakhon O, Victor K, Choy A, Tsuchiya T, Eulgem T, Pedra J.** NSD1 Mitigates caspase-1 activation by listeriolysin O in macrophages. *PLoS One* 2013; 8 (9): 1-12.
15. **Vajjhala P, Mirams R, Hill J.** Multiple binding sites on the pyrin domain of ASC protein allow self-association and interaction with NLRP3 protein. *J Biol Chem* 2012; 287(50): 41732-41743.
16. **Halff E, Diebold C, Versteeg M, Schouten A, Brondijk H, Huizinga E.** Formation and structure of a NAIP5-NLRC4 inflammasome induced by direct interactions with conserved n- and c-terminal regions of flagellin. *J Biol Chem* 2012; 287 (46): 38460-38472.
17. **Segovia J, Sabbah A, Mgbemena V, Tsai SY, Chang TH, Berton M, Morris I, Allen I, Ting J, Bose S.** TLR2/MyD88/NF- κ B pathway, reactive oxygen species, potassium efflux activates NLRP3/asc inflammasome during respiratory syncytial virus infection. *PLoS One* 2012; 7(1): 1-15.
18. **Minkiewicz J.** ATP activation of the NLRP2 inflammasome in human astrocytes. [Tesis Doctoral] Miami: Univ. of Miami; 2013.
19. **Jin C, Flavell R,** Molecular mechanism of nlrp3 inflammasome activation. *J. Clin Immunol* 2010. 30:628-631.
20. **Holbourn K, Shone C, Acharya K.** A family of killer toxins exploring the mechanism of ADP-ribosylating toxins. *FEBS J* 2006; 273: 4579-4593.
21. **Khakh B, North A,** P2X receptors as cell-surface ATP sensors in health and disease. *Nature* 2006; 442 (3): 527-532.
22. **Di Virgilio F,** Liaisons dangereuses: P2X7 and the inflammasome. *Trends Pharmacol Sci* 2007; 28 (9): 465-472.
23. **Sun S, Xia S, Ji Y, Kersten S, Qi L.** The ATP-P2X7 signaling axis is dispensable for obesity-associated inflammasome activation in adipose tissue. *Diabetes* 2012; 61: 1471-1478.
24. **Tschopp J, Schroder K.** NLRP3 inflammasome activation: the convergence of multiple signaling pathways on ROS production? *Nature Rev Immunol* 2010; 10: 210-215.
25. **Hung S, Choi C, Said N, Johnson K, Atanasova K, Sellami H, Yilmaz O, Ojcius D.** P2X4 assembles with P2X7 and pannexin-1 in gingival epithelial cells and modulates ATP-induced reactive oxygen species production and inflammasome activation. *PLoS One* 2013; 8 (7): 1-12.
26. **Fernandes T, Wu J, Yu J, Datta P, Miller B, Jankowski, Rosemberg S, Zhang J,**

- Alnemri E.** The pyroptosome: a supramolecular assembly of ASC dimers mediating inflammatory cell death via caspase-1 activation. *Cell Death Differ* 2007; 14(9): 1590-1604.
27. **Silverman W, De Rivero J, Locovei S, Qiu F, Carsson S, Scemes E, Keane R, Dahl G.** The pannexin-1 channel activates the inflammasome in neurons and astrocytes. *J Biol Chem* 2009; 284(27): 18143-18151.
28. **Craven R, Gao X, Allen I, Gris D, Wardenburg JB, McEvania-Tekippes E, Ting J, Duncan J.** *Staphylococcus aureus* α -hemolysin activates the NLRP3-inflammasome in human and mouse monocytic cells. *PLoS One* 2009; 4 (10): 1-11.
29. **De Rivero J, Bastien D, Yurcisin G, Pineau I, Dietrich W, Dekoninck Y, Keane R, Lacroix S.** P2X4 receptors influence inflammasome activation after spinal cord injury. *J Neurosci* 2012; 32(9): 3058-3066.
30. **Weinhold K, Krause U, Rödel G, Kasper M, Barth K.** Interaction and interrelation of P2X7 and P2X4 receptor complexes in mouse lung epithelial cells. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67(15): 2631-2642.
31. **Hornung V, Bauernfeind F, Halle A, Samstad E, Kono H, Rock K, Fitzgerald K, Latz E.** Silica crystals and aluminum salts mediate NALP-3 inflammasome activation via phagosomal destabilization. *Nat Immunol* 2008; 9(8): 847-856.
32. **Zhou R, Tardivel A, Thorens B, Choi I, Tschopp J.** Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation. *Nat Immunol* 2010; 11 (2):136-140.
33. **Spindel O, World C, Berk B.** Thioredoxin interacting protein: redox dependent and independent regulatory mechanisms. *Antioxid Redox Signal* 2012; 16 (6): 587-596.
34. **Rodríguez B, Nosratola V, Herrera J, Johnson R.** Oxidative stress, renal Infiltration of immune cells, and salt-sensitive hypertension: All for one and one for all. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286:606-616.
35. **Levandowski C, Mailloux C, Ferrara T, Gowan K, Ben S, Jin Y, McFann K, Holland P, Fain P, Dinarello C, Spritz R.** NLRP1 haplotypes associated with vitiligo and autoimmunity increase interleukin-1 β processing via the NLRP1 inflammasome. *PNAS* 2013; 110 (8): 2952-2956.
36. **Latz E., Xiao T, Stutz A.** Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat Rev Immunol* 2013; 13(6): 1-30.
37. **Finger J, Lich J, Dare L, Cook M, Brown K, Duraiswami C, Bertin J, Gough P.** Autolytic proteolysis within the function to find domain (FIIND) is required for NLRP1 inflammasome activity. *J Biol Chem* 2012; 287 (30): 25030-25037.
38. **Frew B, Joag V, Mogridge J.** Proteolytic Processing of Nlrp1b is required for inflammasome activity. *PLoS Pathog* 2012; 8 (4): 1-11.
39. **Mankan A, Kubarenko A, Hornung V.** Immunology in clinic review series; focus on autoinflammatory diseases: inflammasomes: mechanisms of activation. *Clin Exp Immunol* 2011; 167: 369-381.
40. **García M, Guerrero G, Castro M, Medina C.** Inmunomoduladores como terapia adyuvante en la enfermedad infecciosa. *Med Univer* 2009; 11(45):247-259.
41. **Mo J, Boyle J, Howard C, Monie T, Davis B, Duncan J.** Pathogen sensing by nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2 (NOD2) is mediated by direct binding to muramyl dipeptide and ATP. *J Biol Chem* 2012; 287(27): 23057-23067.
42. **Witola W, Mui E, Hargrave A, Liu S, Hypolite M, Montpetit A.** NALP1 influences susceptibility to human congenital toxoplasmosis, proinflammatory cytokine response, and fate of *Toxoplasma gondii*-infected monocytic cells. *Infect Immun* 2011; 79 (2): 756-766.
43. **Liu F, Lo C, Ning X, Kajkowski E, Jin M, Chiriac C, Gonzales C, Naurekiene S, Lock Y, Pong K, Zaleska M, Jacobsen J, Silverman S, Ozenberger V.** Expression of NALP1 in cerebellar neurons stimulates apoptosis. *Cell Signal* 2004; 16(9): 1013-1021.
44. **Bertin J, DiStefano P.** The PYRIN domain: a novel motif found in apoptosis and inflammation proteins. *Cell Death Differ* 2000; 7(12): 1273-1274.

45. **Bruey J, Bruey N, Newman R, Chandler S, Stehlik C, Reed J.** PAN1/NALP2/PYPAF2, an inducible inflammatory mediator that regulates NF- κ B and caspase-1 activation in macrophages. *J Biol Chem* 2004; 279(50): 51897-51907.
46. **Minkiewicz J, De Rivero J, Keane R.** Human astrocytes express a novel NLRP2 inflammasome. *Glia* 2013; 61(7): 1113-1121.
47. **Conti B, Davis B, Zhang J, O'Connor W, Williams K, Ting Y.** CATERPILLER 16.2 (CLR16.2), a novel NBD/LRR family member that negatively regulates T cell function. *J Biol Chem* 2005; 280: 18375-18385.
48. **Grenier J, Wang L, Manji G, Huang W, Al-Garawi A, Kelly R, Carlson A, Merrihan S, Lora J, Briskin M, DiStefano P, Bertin J.** Functional screening of five PYPAF family members identifies PYPAF5 as a novel regulator of NF-kappaB and caspase-1. *FEBS Lett* 2002; 503(1-3): 73-78.
49. **Ratsimandresy R, Dorfleutner A, Stehlik C.** An update on PYRIN domain-containing pattern recognition receptors: from immunity to pathology. *Front Immunol* 2013; 4: 1-20.
50. **Lightfield K, Persson J, Trinidad N, Brubaker S, Kofoed E, Sauer JD, Dunipace E, Warren S, Miao E, Vance R.** Differential requirements for NAIP5 in activation of the NLRC4 Inflammasome. *Infect Immun* 2011; 79 (4): 1606-1614.
51. **Kofoed E, Vance R.** Innate immune recognition of bacterial ligands by NAIPs dictates inflammasome specificity. *Nature* 2012; 477(7366): 592-595.
52. **Wen H, Miao E, Ting J.** Mechanism of NOD-like receptor-associated inflammasome activation. *Immunity* 2013; 39: 432-441.
53. **Savage C, Lopez G, Denes A, Brough D.** NLRP3-inflammasome activating DAMPs stimulate an inflammatory response in glia in the absence of priming which contributes to brain inflammation after injury. *Front Immunol* 2012; 3 (288):1-11.
54. **Inoue M, Williams K, Gunn M, Shinohara M.** NLRP3 inflammasome induces chemotactic immune cell migration to the CNS in experimental autoimmune encephalomyelitis. *PNAS* 2012 109 (26): 10480-10485.
55. **Jin T, Curry J, Smith P, Jiang J, Xiao S.** Structure of the NLRP1 caspase recruitment domain suggests potential mechanisms for its association with procaspase-1. *Proteins* 2013; 81(7): 1-8.
56. **Srinivasula S, Poyet JL, Razmara M, Datta P, Zhang Z, Alnemri E.** The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1. *J Biol Chem* 2002; 277(24): 21119-21122.
57. **Scott AM, Saleh M.** The inflammatory caspases: guardians against infections and sepsis. *Cell Death Differ* 2007; 14: 23-31.
58. **Burns K, Martinon F, Tschopp J.** New insights into the mechanism of IL-1 β maturation. *Curr Opin Immunol* 2003; 15: 26-30.
59. **Fernandes T, Yu JW, Wu J, Datta P, Alnemri E.** AIM2 activates the inflammasome and cell death in response to cytoplasmic DNA. *Nature* 2009; 458(7237): 509-513.
60. **Schroder K, Tschopp J.** The inflammasomes. *Cell* 2010; 140:821-832.
61. **Hornung V, Ablasser A, Denni MC, Bauernfeind F, Hovarth G, Caffrey D, Latz E, Fitzgerald K.** AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1 activating inflammasome with ASC. *Nature* 2009; 458(7237): 514-518.
62. **Brunette R, Young J, Whitley D, Brodsky I, Malik H, Stetson D.** Extensive evolutionary and functional diversity among mammalian AIM-2-like receptors. *J Exp Med* 2012; 209(11): 1969-1983.
63. **Cridland J, Curley E, Wykes M, Schroder K, Sweet M, Roberts T, Ragan M, Kassahn K, Stacey K.** The mammalian PYHIN gene family: phylogeny, evolution and expression. *BMC Evol Biol* 2012; 12:1-17.
64. **Albrecht M, Choubey D, Lengauer T.** The HIN domain of IFI-200 proteins consists of two OB folds. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 327 (3): 679-687.
65. **Lee J, Li N, Gretz N, Gebert J, Dihlmann S.** Absent in melanoma 2 (AIM2) is an important mediator of interferon-dependent and -independent HLA-DRA and HLA-DRB

- gene expression in colorectal cancers. *Oncogene* 2012; 31: 1242-1253.
66. **Juruj C, Lelogeais V, Pierini R, Perret M, Py BF, Jamilloux Y, Broz P, Ader F, Faure M, Henry T.** Caspase-1 activity affects AIM2 speck formation/stability through a negative feedback loop. *Front Cell Infect Microbiol* 2013; 3(14): 1-11.
 67. **Commins S, Steinke JW, Borish L.** The extended IL-10 superfamily: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, and IL-29. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121(5): 1108-1111.
 68. **Huang TT, Chong KY, Ojcius D, Wu YH, Ko YF, Wu CY, Martel J, Lu CC, Lai HC, Young J.** *Hirsutella sinensis* mycelium suppresses interleukin-1b and interleukin-18 secretion by inhibiting both canonical and non-canonical inflammasomes. *Sci Rep* 2013; 3: 1374: 1-11.
 69. **Dinarello C.A, Novick D, Kim S, Kaplansky G.** Interleukin-18 and IL-18 binding protein. *Front Immunol* 2013; 8; 4(289): 1-10.
 70. **Martinon F, Mayor A, Tschopp J.** The inflammasomes: guardians of the body. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 229-265.
 71. **Akhter A, Caution K, Abu A, Tazi M, Abdulrahman B, Abdelasiz D, Vozz O, Doseff A, Hassan H, Azad A, Schlesingel L, Wewers M, Gavriliu M, Amer A.** Caspase-11 promotes the fusion of phagosomes harboring pathogenic bacteria with lysosomes by modulating actin polymerization. *Immunity* 2012; 37: 35-47.
 72. **Sollberger G, Strittmatter GE, Kistowska M, French LE, Beer HD.** Caspase-4 is required for activation of inflammasomes. *J Immunol* 2012; 188(4): 1992-2000.
 73. **Kayagaki N, Warming S, Lamkanfi M, Van de Walle L, Louie S, Dong J, Newton K, Qu Y, Liu J, Heldens S, Zhang J, Lee W, Rose M, Dixit V.** Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature* 2011; 479: 117-121.
 74. **Casson C, Copenhagen A, Zwack E, Nguyen H, Strowig T, Javdan B, Bradley W, Fung T, Flavell R, Brodsky I, Shin S.** Caspase-11 activation in response to bacterial secretion systems that access the host cytosol. *PLoS Pathog* 2013; 9 (6):1-16.
 75. **Broz P, Monack D.** Noncanonical inflammasomes: caspase-11 activation and effector mechanisms. *PLoS Pathog* 2013; 9 (2): 1-9.
 76. **Keller M, Ruegg A, Werner S, Beer H.** Active caspase-1 is a regulator of unconventional protein secretion. *Cell* 2008; 132: 818-831.
 77. **Bergsbaken T, Fink S, Cookson B.** Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7: 99-109.
 78. **Gringhuis SI, Kaptein TM, Wevers BA, Theelen B, Van der Vlist M, Boekhout T, Geijtenbeek TB.** Dectin-1 is an extracellular pathogen sensor for the induction and processing of IL-1 β via a noncanonical caspase-8 inflammasome. *Nat Immunol* 2012; 13(3):246-254.
 79. **Maelfait J, Vercammen E, Janssens S, Schotte P, Haegman M, Magez S, Beyaert R.** Stimulation of Toll-like receptor 3 and 4 induces interleukin-1 β maturation by caspase-8. *J Exp Med* 2008; 205(9): 1967-1973.
 80. **Hara H, Tsuchiya K, Kawamura I, Fang R, Hernandez-Cuellar E, Shen Y, Mizuguchi J, Schweighoffer E, Tybulewicz V, Mitsuyama M.** Phosphorylation of the adaptor ASC acts as a molecular switch that controls the formation of speck-like aggregates and inflammasome activity. *Nat Immunol* 2013; 12: 1247-1255.
 81. **Franchi L, Eigenbrod T, Nuñez G.** Cutting edge: TNF- α mediates sensitization to ATP and silica via the NLRP3 inflammasome in the absence of microbial stimulation. *J Immunol* 2009; 183: 792-796.
 82. **Juliana C, Fernandes T, Kang S, Farias A, Qin F, Alnemri ES.** Non-transcriptional priming and deubiquitination regulate NLRP3 inflammasome activation. *J Biol Chem* 2012; 287(43): 36617-36622.
 83. **Py BF, Kim MS, Vakifahmetoglu-Norberg H, Yuan J.** Deubiquitination of NLRP3 by BRCC3 critically regulates inflammasome activity. *Mol Cell* 2013; 49 (2): 331-338.
 84. **Qu Y, Misaghi S, Izrael-Tomasevic A, Newton K, Gilmour LL, Lamkanfi M, Louie S, Kayagaki N, Liu J, Kömüves L, Cupp JE, Arnott D, Monack D, Dixit VM.**

- Phosphorylation of NLRC4 is critical for inflammasome activation. *Nature* 2012; 490 (7421): 539-542.
85. **Lu B, Nakamura T, Inouye K, Li J, Tang Y, Lundbäck P, Valdes-Ferrer SI, Olofsson PS, Kalb T, Roth J, Zou Y, Erlandsson-Harris H, Yang H, Ting JP, Wang H, Andersson U, Antoine DJ, Chavan SS, Hotamisligil GS, Tracey KJ.** Novel role of PKR in inflammasome activation and HMGB1 release. *Nature* 2012; 488 (7413): 670-674.
86. **Haneklaus M, O'Neill LA, Coll RC.** Modulatory mechanisms controlling the NLRP3 inflammasome in inflammation: recent developments. *Curr Opin Immunol* 2013; 25 (1): 40-45.
87. **Bauernfeind F, Rieger A, Schildberg FA, Knolle PA, Schmid-Burgk JL, Hornung V.** NLRP3 inflammasome activity is negatively controlled by miR-223. *J Immunol* 2012; 189 (8): 4175-4181.
88. **Lee G, Subramanian N, Kim A, Aksentijevich I, Goldbach-Mansky R, Sacks DB, Germain RN, Kastner DL, Chae J.** The calcium-sensing receptor regulates the NLRP3 inflammasome through Ca²⁺ and cAMP. *Nature* 2012; 492 (7427): 123-127.
89. **Compan V, Baroja-Mazo A, López-Castejón G, Gómez AI, Martínez CM, Angosto D, Montero MT, Herranz AS, Bazán E, Reimers D, Mulero V, Pelegrín P.** 2012. Cell volume regulation modulates NLRP3 inflammasome activation. *Immunity* 2012; 37(3): 487-500.
90. **Zhang C, Boini K, Xia M, Abais J, Li X, Liu Q, Li PL.** Activation of NALP3 inflammasomes turns on podocyte injury and glomerular sclerosis in hyperhomocysteinemia. *Hypertension* 2012; 60(1): 154-162.
91. **Lee H, Kim J, Kim H, Shong M, Ku B, Jo E.** Upregulated NLRP3 inflammasome activation in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2013; 62: 194-204.
92. **Ghaemi F, Shi Y.** The role of uric acid as an endogenous danger signal in immunity and inflammation. *Curr Rheumatol Rep* 2011; 13(2): 160-166.
93. **De Nardo D, Latz E.** NLRP3 inflammasomes link inflammation and metabolic disease. *Trends Immunol* 2011; 32: 373-379.
94. **Razani B, Feng C, Coleman T, Emanuel R, Wen H, Hwang S, Ting J, Virgin H, Kastan M, Semenkovich C.** Autophagy links inflammasomes to atherosclerotic progression. *Cell Metab* 2012; 15(4): 534-544.
95. **Zhao L, Ding T, Cyrus T, Cheng Y, Tian H, Ma M, Falotico R, Pratico D.** Low-dose oral sirolimus reduces atherogenesis, vascular inflammation and modulates plaque composition in mice lacking the LDL receptor. *Br J Pharmacol* 2009; 156: 774-785.
96. **Wen H, Gris D, Lei Y, Jha S, Zhang L, Huang M, Brickey J, Ting J.** Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling. *Nat Immunol* 2011; 12: 408-415.
97. **Pope R, Schopp J.** The role of interleukin-1 and the inflammasome in gout: implications for therapy. *Arthritis Rheum* 2007; 56 (10): 3183-3188.
98. **Kingsbury S, Conaghan P, McDermott M.** The role of the NLRP3 inflammasome in gout. *J Inflamm Res* 2011; 4: 39-49.
99. **Lorenz G, Darisipudi M, Anders H.** Canonical and non-canonical effects of the NLRP3 inflammasome in kidney inflammation and fibrosis. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29 (1): 41-48.
100. **Iyer S, Pulskens W, Sadler J, Butter L, Teske G, Ulland T, Eisenbarth S, Florquin S, Flavell R, Leemans J, Sutterwala F.** Necrotic cells trigger a sterile inflammatory response through the Nlrp3 inflammasome. *PNAS* 2009; 106 (48): 20388-20393.
101. **Kalantari P, De Oliveira R, Chan J, Corbett Y, Rathinam V, Stutz A, Latz E, Gazzinelli R, Golenbock D, Fitzgerald K.** Dual engagement of the NLRP3 and AIM2 inflammasomes by plasmodium-derived hemozoin and DNA during malaria. *Cell Rep* 2014; 6: 196-210.
102. **Shio M, Eisenbarth S, Savaria M, Vinet A, Bellemare M, Harder K, Sutterwala F,**

- Bohle D, Descoteaux A, Flavell R, Olivier M.** Malarial hemozoin activates the NLRP3 inflammasome through lyn and syk kinases. *PLoS Pathog* 2009; 5(8): 1-14.
103. **Caorsi R, Lepore L, Zulian F, Alessio M, Stabile A, Insalaco A, Finetti M, Battagliese A, Martini G, Bibalo C, Martini A, Gattorno M.** The schedule of administration of canakinumab in cryopyrin associated periodic syndrome is driven by the phenotype severity rather than the age. *Arthritis Res Ther* 2013; 15:1-8.
104. **Lu A, Magupalli V, Ruan J, Yin Q, Atianand M, Vos M, Schrodër G, Fitzgerald K, Wu H, Elegman E.** Unified polymerization mechanism for the assembly of ASC-dependent inflammasomes. *Cell* 2014; 156: 1193-1206.