



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

"POLARIZACIÓN DE LINFOCITOS CD4⁺ PARA LA
PRODUCCIÓN DE INTERLEUCINA 17"

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGA

PRESENTA

VALVERDE DEL RÍO ALMA KAREN



MÉXICO, D.F.

AÑO 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

SINODALES

PRESIDENTE	Profesor: SALINAS VAZQUEZ MARÍA DEL RAYO
VOCAL	Profesor: AGUILAR CÁRDENAS ANA ESTHER
SECRETARIO	Profesor: FUENTES SIXTOS HONORIA
1er. SUPLENTE	Profesor: VAZQUEZ SALGADO ROSALINDA
2do. SUPLENTE	Profesor: REYES SALINAS SILVIA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

BIBLIOTECA CENTRAL, CIUDAD UNIVERSITARIA, MÉXICO D.F.

ASESOR DEL TEMA: Dra. ANA ESTHER AGUILAR CÁRDENAS

SUSTENTANTE: VALVERDE DEL RÍO ALMA KAREN

ÍNDICE

Introducción y Objetivo.....	1
1. Generalidades del sistema inmunológico.....	3
1.1 Sistema inmune adaptativo.....	4
1.2 Linfocitos	6
1.3 Linfocitos Th17.....	11
2. Interleucina 17 (IL-17).....	14
2.1 Estructura y características.....	14
2.2 Receptor de la familia IL-17.....	15
2.3 Vía de señalización para la IL-17.....	18
2.4 Regulación de la señalización para IL-17.....	22
2.5 Funciones Biológicas de la IL-17.....	26
3 Inductores de la producción de Interleucina 17.....	29
3.1 Citocinas proinflamatorias.....	29
3.2 Citocinas inmunoreguladoras.....	31
3.3 Factores de transcripción.....	31
4 Métodos de cuantificación de Interleucina 17.....	34
4.1 Citometría de Flujo.....	35

4.2	ELISA	38
4.3	PCR	39
5	Importancia de la Interleucina 17 en el área clínica.....	41
5.1	IL-17 en la defensa del hospedero.....	41
5.2	IL-17 en las enfermedades autoinmunes.....	42
5.3	IL-17 en las enfermedades intestinales.....	46
5.4	IL- 17 en las enfermedades alérgicas.....	48
5.5	IL-17 y el cáncer.....	49
5.6	IL-17 y zinc.....	51
6	Perspectivas.....	57
7	Conclusión.....	59
8	Bibliografía.....	61

ABREVIATURAS

AR	ARTRITIS REUMATOIDE
APC	CÉLULA PRESENTADORA DE ANTÍGENO
ADCC	LISIS CELULAR DEPENDIENTE DE ANTICUERPO
BCR	RECEPTOR DE CÉLULAS B
CD	CLÚSTER DE DIFERENCIACIÓN
CELLS NK	CÉLULAS NATURAL KILLER
CIA	ARTRITIS INDUCIDA POR COLÁGENO
CLP	CÉLULA PROGENITORA LINFOIDE COMÚN
COX	ENZIMA CICLOXIGENASA
CTLA	ANTÍGENO ASOCIADO A LINFOCITO T CITOTÓXICO
CXC/CCL	QUIMIOCINAS
DAMP	PATRONES MOLÉCULARES ASOCIADOS A DAÑO O PELIGRO
DC	CÉLULA DENDRÍTICA
DNA	ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO
DsDNA	ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO DE DOBLE CADENA
EAE	ENCEFALITIS AUTOINMUNE EXPERIMENTAL
ELISA	ENSAYO DE ENZIMA LIGADA A UN INMUNOABSORBENTE
FITC	ISOTIOCIANATO DE FLUORESCENCIA
FOXP3	FORKHEAD BOX PROTEIN 3
G-CSF	FACTOR ESTIMULADOR DE COLONIAS DE GRANULOCITO
GITR	PROTEÍNA RELACIONADA CON EL TNF INDUCIDA POR GLUCOCORTICOIDES
GM-CSF	FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS DE GRANULOCITOS Y MACRÓFAGOS
GSK3β	GLUCÓGENO SINTETASA CINASA 3 β
HDL	LÍPIDOS DE ALTA DENSIDAD
HLA	ANTÍGENOS LEUCOCITARIOS HUMANOS
IDB	ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL
IFN	INTERFERÓN
IFN-γ	INTERFERON GAMMA
Ig	INMUNOGLOBULINA
IL	INTERLEUCINA
IL-17	INTERLEUCINA 17
IL-17R	RECEPTOR PARA INTERLEUCINA 17
IRF	FACTOR REGULADOR DE INTERFERÓN
IRF4	FACTOR 4 REGULADOR DE INTERFERÓN
iTreg	CÉLULAS T REGULADORAS INDUCIDA
KIR	RECEPTOR INHIBITORIO KILLER
LES	LUPUS ERITOMATOSO SISTÉMICO

MAPK	PROTEÍNA CINASA, ACTIVADA POR MITÓGENOS
MDDC	CÉLULAS DENDRÍTICAS DERIVADAS DE MONOCITOS
MHC	COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD
MMP	METALOPROTEASAS
MS	ESCLEROSIS MÚLTIPLE
NF-κB	FACTOR NUCLEAR POTENCIADOR DE LAS CADENAS LIGERAS KAPPA DE LAS CÉLULAS B ACTIVADAS
PAMP	PATRONES MOLÉCULARES ASOCIADOS A PÁTOGENOS
PBMC	CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA
PerCP	PROTEÍNA PERIDIN CLOROFILA
PRR	RECEPTORES DE RECONOCIMIENTO A PATRONES
mRNA	ÁCIDO RIBONUCLEICO MENSAJERO
MT	METALOTIONEINAS
NF-Kβ	FACTOR NUCLEAR POTENCIADOR DE LAS CADENAS LIGERAS KAPPA DE LAS CÉLULAS B ACTIVADAS
NK	CÉLULAS NATURAL KILLER
nTreg	CÉLULAS T REGULADORAS NATURALES
PCR	REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA
PE	FICOERITRINA
PerCP	PROTEÍNA PERIDINA CLOROFILA
PMN	LEUCOCITOS POLIMORFONUCLEARES
RA	ARTRITIS REUMATOIDE
RORγt	RECEPTORES "ORPHAN" DE ACIDO RETINOICO
SERIF	ABREVIATURA DE SER/IL-17R
SLE	LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO
STAT3	TRANSDUCTOR DE SEÑAL Y ACTIVADOR DE LA TRANSCRIPCIÓN 3
T CD4⁺	LINFOCITO T COOPERADOR
T CD8⁺	LINFOCITO T CITOTÓXICO
TCR	RECEPTOR DE LAS CÉLULAS T
TC17	CÉLULAS PRODUCTORAS DE IL-17 A PARTIR DE CÉLULAS T CD8 ⁺
Tfh	LINFOCITOS TH FOLICULARES
TGF-β	FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE BETA
TH	CÉLULA T COOPERADORA
TH-- X	LINFOCITOS T COOPERADORES
Th9	CÉLULAS T CD4 PRODUCTORAS DE IL-9
TLR	RECEPTORES TIPO TOLL
TNF-α	FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALPHA
TREG	CÉLULAS T REGULADORAS

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO

La interleucina 17 (IL-17) es una citocina proinflamatoria, descubierta en el año de 1993. Esta citocina deriva principalmente de la diferenciación de las células TCD4⁺ que dan origen a las células Th17, principales células productoras de esta citocina, no obstante, se conoce que también puede ser producida por otros tipos de células como: las células T CD8⁺, las células NKT y las células T $\gamma\delta$, entre otras más.

Entre los principales inductores que participan en la producción de la IL-17 se encuentra, la presencia de IL-6 y el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) que mediante la activación de la vía STAT3, así como de los receptores nucleares del ácido retinoico (ROR γ t y ROR α), el factor 4 regulador del interferón (IRF4) y diversos factores de transcripción, permiten su síntesis y liberación.

La IL-17 ha sido asociada a distintas enfermedades, pero destaca sobre todo su presencia en las enfermedades autoinmunes e inflamatorias. La IL-17 es considerada como una citocina con doble acción, ya que se ha encontrado por una parte que puede desempeñar un papel protector, pero también puede favorecer la progresión de la enfermedad y ello depende de diversos factores, como lo son: el sistema inmune que posee el individuo, la enfermedad, progresión de la enfermedad y estilo de vida de la persona, entre otros más.

Por lo que el objetivo de este Trabajo Monográfico de Actualización es revisar la información publicada en los últimos 5 años, en distintos medios como: bases de datos, bibliotecas e internet sobre la citocina pro-inflamatoria IL-17. La información que incluye este trabajo muestra diversos aspectos de la citocina como aquellos relacionados con su estructura, vía de señalización, regulación, moléculas que participan en su producción, métodos más utilizados para su cuantificación y su participación en diversas patologías, con el fin de conocer y comprender mejor cual es la importancia que tiene en las diferentes enfermedades

y si es posible, que por medio de su estudio se pueda obtener información relevante de cómo prevenir y tratar las enfermedades con las que se le relaciona a esta citocina.

1. GENERALIDADES DEL SISTEMA INMUNOLÓGICO

El sistema inmunológico se divide arbitrariamente en sistema inmune innato y en sistema inmune adaptativo, por lo que dependiendo del agente patógeno que amenace la integridad del cuerpo humano se activara uno u otro sistema, desencadenando una serie de reacciones con la finalidad del eliminar en menor tiempo al agente patógeno del organismo.

Comúnmente la inmunidad innata es denominada también inmunidad inmediata, ya que este sistema es la primera línea de defensa contra infecciones. En la inmunidad innata participan las barreras físicas y químicas en epitelios queratinizados y mucosos, las células fagocíticas y citolíticas y moléculas sanguíneas que incluyen el sistema del complemento, factores de coagulación y una serie de citocinas, las moléculas que coordinan y regulan las células que participan en la respuesta innata (Barcenilla RH *et al*, 2009). Para que se inicie este tipo de respuesta se requiere el reconocimiento de un agente inductor por sensores, denominados genéricamente como PRR o receptores de reconocimiento de patrones. En el caso de que los PRR reconozcan patrones moleculares asociados a patógenos se les llama PAMP, pero sí reconocen otras señales de peligro (*in-out*) entonces se les da el nombre de DAMP o patrones moleculares asociados a daño o peligro. Los PRR son expresados en la membrana de numerosos tipos celulares entre los que destacan los macrófagos y las células dendríticas, dos tipos de células presentadoras profesionales de antígeno o APC (Reyes ME *et al*, 2013). De manera que una vez que se lleva a cabo este reconocimiento se desencadenan distintas respuestas para suprimir el daño al organismo como: la fagocitosis, lisis celular, actividad microbicida, entre otras.

Cuando el sistema inmune innato falla, los mecanismos efectores de este sistema son utilizados también por la respuesta inmune adaptativa o antígeno específica, la cual se activa al ser estimulada por la inmunidad innata, generando

nuevas interacciones entre el antígeno y su receptor para la eliminación del agente infeccioso.

1.1 Sistema inmune adaptativo

El sistema inmune adaptativo mejor conocido como sistema inmune antígeno específico, es la otra rama en la que se divide al sistema inmunológico para su estudio. Este sistema se diferencia del sistema inmune innato principalmente por el tiempo de respuesta, por el amplio reconocimiento específico de diversos antígenos, por poseer tolerancia a lo propio y por su alta especificidad. Este sistema es activado y modulado por el sistema inmune innato y se pone en marcha una vez que este falla. Por lo que este tipo de sistema conseguirá eliminar aquellos agentes patógenos que se han internalizado en el organismo. Algunos ejemplos de estos patógenos son: las bacterias intracelulares y virus.

En las respuestas adaptativas participan células del sistema inmune innato, así como del sistema adaptativo. Por lo que esta respuesta se inicia cuando los linfocitos T CD4⁺ reconocen a antígenos presentados por APC como: células dendríticas, macrófagos o células B, que previamente los ha endocitado y degradado en péptidos que se asocian a moléculas conocidas como moléculas del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC), a las que serán presentados para su reconocimiento por los linfocitos, para que este reconocimiento sea llevado a cabo se necesita que la célula profesional presentadora de antígeno aporte señales de coestimulación concurrentes a la estimulación antigénica a través del receptor de linfocitos denominado como TCR. Las señales de coestimulación mejor conocidas son las moléculas de membrana CD80 y CD86 que la célula presentadora de antígeno expresa cuando son estimulados sus receptores para patrones moleculares asociados a patógenos (Barcenilla RH *et al*, 2009). Una vez que la molécula del complejo principal de histocompatibilidad presente al antígeno, este será reconocido por los linfocitos T, si la molécula del complejo principal de histocompatibilidad es de clase tipo II será reconocida

específicamente por los linfocitos T CD4⁺ pero si esta molécula es de clase tipo I entonces será reconocida por los linfocitos T CD8⁺.

Cuando los linfocitos CD4⁺ activan la respuesta adaptativa colaborarán con las células B para que produzcan anticuerpos específicos contra los antígenos del agente patógeno y con los linfocitos citotóxicos para que eliminen las células infectadas por agentes patógenos intracelulares y retroestimulen las células fagocíticas como los macrófagos, incrementando su capacidad fagocítica y actividad microbicida. Por lo que el reconocimiento del antígeno por las células T y B desencadena en estas células procesos de activación, proliferación, diferenciación y especialización funcional en células efectoras y memoria. Las primeras reaccionan contra el antígeno del microorganismo infeccioso y las segundas sobreviven durante largos periodos de tiempo y recirculan por los órganos linfoides, donde reconocerán específicamente al agente patógeno en caso de producirse una reinfección. El conocimiento de los mecanismos subyacentes a dichos procesos es necesario para lograr una comprensión adecuada de las respuestas inmunes antígeno específicas (Barcenilla RH *et al*, 2009).

Las respuestas antígeno específicas se clasifican de acuerdo a los tipos de mecanismos que presentan en: a) mecanismos celulares mediados principalmente por linfocitos T y en menor proporción por células citotóxicas y fagocíticas como las células Natural Killer (NK), este mecanismo se encarga de eliminar a los agentes patógenos intracelulares, por ejemplo: virus y bacterias intracelulares que evaden la inmunidad humoral; b) mientras que en los mecanismos humorales participan los anticuerpos presentes en sangre, linfa, matriz extracelular y secreciones mucosas. Los anticuerpos se unen a los antígenos del agente patógeno con una alta afinidad química, neutralizándolos y dirigiendo contra ellos otros mecanismos efectoras como: la activación del complemento, la realización de fagocitosis o la lisis celular dependiente de anticuerpo (ADCC). Los anticuerpos son producidos por los linfocitos B, aunque en muchos casos se necesita la

cooperación de linfocitos T. La inmunidad humoral es muy eficaz en la defensa frente a patógenos extracelulares y sus toxinas. No obstante, la limitación de este tipo de inmunidad radica en que muchos patógenos pueden eludir a los anticuerpos introduciéndose dentro de las células del huésped, donde quedarán fuera de su alcance y, por tanto, a salvo de ellos (Barcenilla RH *et al*, 2009).

1.2 Linfocitos

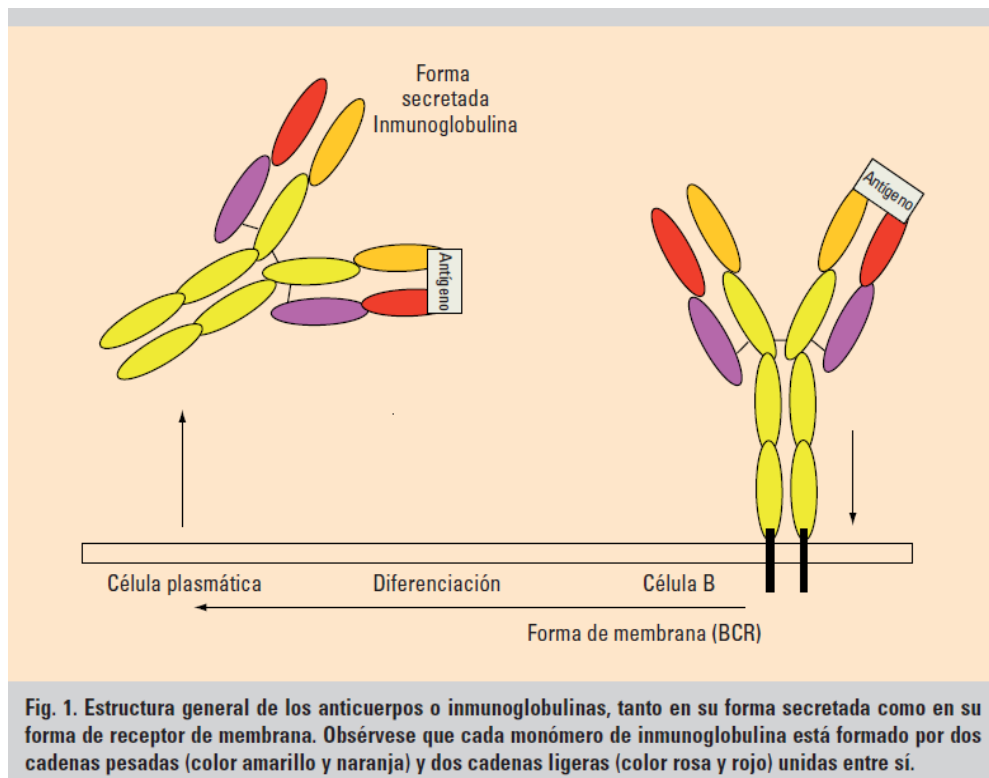
La célula madre hematopoyética pluripotente (Pluripotent haemopoietic stem cell) da origen a la célula progenitora linfoide común (CLP), la que a su vez, al diferenciarse genera a los linfocitos que son los encargados de la respuesta inmune antígeno específica.

Los linfocitos pueden clasificarse de acuerdo a sus receptores de membrana en 3 subtipos que son:

- a) Linfocitos B encargados de la inmunidad humoral que maduran en un órgano llamado Bursa de *Fabricius* (en las aves) o bien en la médula ósea en mamíferos.

Cada linfocito B reconoce a un antígeno en particular a través de un receptor de membrana denominado BCR (por sus siglas en inglés *B cell receptor*), que al reconocer al antígeno transduce señales al interior de la célula B iniciándose así un programa de diferenciación celular. La célula B activada se diferencia en un clon de células plasmáticas secretoras de anticuerpos específicos. Actualmente se considera que la célula plasmática es productora de 5 tipos de anticuerpos denominados: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. En la estructura de los anticuerpos hay que destacarse tres aspectos importantes: 1) Que cada molécula monomérica de anticuerpo está formada por dos cadenas pesadas y otras dos ligeras, unidas covalentemente por puentes disulfuro (Fig. 1); 2) Estas cadenas están a su vez formadas, cada

una, por una serie de dominios de inmunoglobulina de estructura globular; 3) Estos dominios son de dos tipos, denominados comúnmente como dominios variables característicos de las inmunoglobulinas producidas por cada linfocito B (idiotipo), que son responsables del reconocimiento antigénico y los dominios constantes que son aquellos que determinarán el isotipo y las funciones biológicas de la inmunoglobulina producida según sea el caso (Prieto MA *et al*, 2013).



Fuente: Prieto MA, Barbarroja EJ, Barcenilla RH y Díaz MD. Funciones de los linfocitos B. *Med* 2013; 11(28):1752-1759.

Entre las funciones principales de las inmunoglobulinas (Tabla No.1) se encuentra que la inmunoglobulina IgM es el primer isotipo expresado por las células B en desarrollo y las células B maduras, siendo por ello el isotipo que domina en la respuesta humoral primaria. La IgD fundamentalmente se encuentra en su forma de membrana de los linfocitos B maduros y en muy

bajas concentraciones circulante en sangre. La IgG además de activar el complemento para lisar bacterias como *Neisseria meningitidis*, es importante en la opsonización, fagocitosis y posterior lisis lisosomal de las bacterias encapsuladas, como *Streptococcus pneumoniae*, que son resistentes al efecto lítico del complemento. La IgA es el isotipo que predomina claramente en las secreciones mucosas así como en la leche y el calostro. Finalmente la IgE es importante en las respuestas inmunes a los parásitos y a los alérgenos (Prieto MA *et al*, 2013).

TABLA No.1

Funciones de los distintos isotipos de inmunoglobulinas

Función	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	IgE
Neutralización	+	-	+	+	+	+	+	+	-
Opsonización	-	-	+++	+	++	+	+	+	-
Citotoxicidad por células NK	-	-	++	-	++	-	-	-	-
Degranulación por mastocitos	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Activación de complemento	++++	-	+++	+	++++		+v.a.-	-	-
Transferencia placentaria	-	-	++	+	++	++	-	-	-

v.a: vía alternativa

Fuente: Prieto MA, Barbarroja EJ, Barcenilla RH y Díaz MD. Funciones de los linfocitos B. *Med* 2013; 11(28):1752-1759.

Por lo descrito anteriormente se observa que los linfocitos B desempeñan un papel importante en la inmunidad adaptativa, ya que a pesar de ser productores de anticuerpos también realizan funciones adicionales como: la presentación antigénica, producción de citocinas, funciones inmunoreguladoras y la generación de células de memoria para reconocimiento antigénico posterior a la infección. Es por ello que la alteración en la función celular de estas células del sistema inmune como la producción de autoanticuerpos, el defecto en la regulación negativa y la presentación de autoantígenos por células B memoria autorreactivas

pueden desencadenar patologías autoinmunes, por ejemplo: Artritis Reumatoide (AR), lupus eritematoso sistémico (LES) y púrpura trombocitopénica (Rincón AH *et al*, 2013).

- b) Las células NK (asesinas naturales o natural Killer) participan principalmente en la inmunidad innata. Estas células son un tipo de linfocitos producidos en la médula ósea, cuya función efectora está mediada por la producción de citocinas y su actividad citotóxica. Se encuentran principalmente en los nódulos linfoides y la sangre, pero también están ampliamente distribuidas en la piel, el intestino, el hígado, los pulmones y el útero, entre otros tejidos (Taborda NA *et al*, 2014).

La principal diferencia entre los linfocitos T y B con las células Natural Killer (NK) radica en que estas células no cuentan con un receptor único de linfocitos como lo es el receptor de células T o B, no obstante, las células NK cuentan con diferentes tipos de receptores entre ellos se encuentran: los receptores lectina tipo C, que incluyen: a) el heterodímero NKG2D/CD94 encargado del reconocimiento de la molécula no clásica del complejo principal de histocompatibilidad, HLA-E5; b) los receptores de citotoxicidad natural (*natural cytotoxicity receptors* [NCR]), que incluyen a los receptores activadores NKp30, NKp44 y NKp46, expresados exclusivamente por las células NK; c) los receptores de la familia de las inmunoglobulinas, llamados receptores *killer inhibitory receptor* (KIR), los cuales pueden ser activadores o inhibidores y reconocen la disminución en la expresión de las moléculas de HLA-I y d) finalmente, el receptor CD16, un receptor Fc del tipo FcγRIIIA de baja afinidad para la IgG, para el reconocimiento de células opsonizadas con anticuerpos IgG (Taborda NA *et al*, 2014).

- c) Linfocitos T, encargados de la inmunidad celular genera sus precursores en la médula ósea, posteriormente estos migran y maduran en el timo. En la circulación sanguínea se puede encontrar a los linfocitos T en 3 estadios funcionales: Los linfocitos T *naive*, son linfocitos que aún no han tenido

contacto antigénico desde su salida del timo. Cuando el linfocito T *naive* reconoce específicamente al antígeno es estimulado por otras señales generando su proliferación y diferenciación hacia linfocitos T efectores que son los encargados de eliminar antígeno extraño. Cuando los linfocitos T *naive* reconocen específicamente al antígeno también generan linfocitos T de memoria que son los responsables de responder frente al antígeno al que fueron estimulados previamente.

El linfocito T realiza el reconocimiento antigénico a través del TCR, este receptor es un complejo heterodimérico formado por dos cadenas proteicas transmembranales que están unidas covalentemente por un puente disulfuro. En el 95% de los linfocitos estas cadenas se denominan α y β . Sin embargo, existe una población minoritaria en la que las cadenas del TCR se denominan γ y δ , y están codificadas por otros genes distintos de los utilizados por la mayoría de los linfocitos T. Las dos cadenas del TCR forman el lugar de reconocimiento del antígeno presentado por las moléculas de histocompatibilidad. El dímero $\alpha\beta$ está asociado con las cadenas del heterocomplejo CD3 constituido por las moléculas transmembranales ζ , δ , ϵ y η que transducen al interior celular la señal de activación secundaria al reconocimiento antigénico. El complejo CD3-TCR se encuentra asociado a uno de los correceptores CD4 o CD8 que establecen interacciones con las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad de clase II o clase I respectivamente dentro de la sinapsis inmunológica (Reyes ME *et al*, 2013). Por lo descrito anteriormente es posible clasificar a los linfocitos T en dos subclases que son: los linfocitos Th o linfocitos T cooperadores que se caracterizan por tener TCR⁺, CD4⁺, CD3⁺, CD8⁻ y los linfocitos Tc o linfocitos T citotóxicos, los cuales poseen un TCR⁺, CD4⁻, CD3⁺, CD8⁺, los primeros realizan diversas funciones para el control y la regulación de algunos elementos del sistema inmune mientras que los segundos son responsables de la destrucción de

células infectadas por agentes infecciosos intracelulares y de células que presentan alguna anomalía.

1.3 Linfocitos Th17

Cuando los linfocitos T son activados por un antígeno, estos se diferencian a linfocitos T efectores capaces de eliminar del cuerpo al agente extraño. El proceso de la diferenciación de un linfocito T *naive* a Linfocito T efector es denominada comúnmente como polarización de linfocitos T o B según sea el caso. Una vez que se inicia el reconocimiento antigénico, el linfocito que es activado por el antígeno sufre diferenciación a un estado intermedio llamado Th0. El linfocito Th0 se diferenciará a diferentes linfocitos efectores dependiendo de las señales que reciba en el momento del reconocimiento antigénico, por ejemplo: citocinas, la naturaleza del antígeno, la célula polarizadora y la dosis del antígeno (Díaz MD *et al*, 2013).

En el caso de los linfocitos TCD4⁺ *naive* pueden diferenciarse a 4 linajes de linfocitos TCD4⁺ efectores, denominados Th1, Th2, Th17 y células T reguladoras (Treg). En la diferenciación hacia células Th1 se requiere de la presencia de IL-12, así como de los factores de transcripción STAT-4 y T-bet. Pero parte si la célula TCD4⁺ *naive* se diferencia hacia el linaje Th2, la IL-4 promueve su desarrollo mediante la activación de los factores de transcripción STAT-4 Y GATA3. Las células Th1 y Th2 fueron las primeras en descubrirse, no obstante, posteriormente se encontró otro linaje celular al que se le dio el nombre de linfocitos Th17 por su capacidad de producir y secretar IL-17A principalmente. Esta subpoblación celular requiere de la presencia IL-6 y TGFβ (factor de crecimiento transformante beta) que mediante la activación de STAT3, los receptores nucleares de ácido retinoico RORγt y RORα y el factor 4 regulador del interferón IRF4 como factores de transcripción esenciales dan lugar a la síntesis y liberación de IL-17A (Fernández ÁS, 2011).

Recientes hallazgos señalan que el desarrollo de los linfocitos Th17 se debe a citocinas proinflamatorias producidas en respuestas a bacterias y hongos, ya que varios de estos agentes actúan sobre las células dendríticas (CD's) y estimulan la producción de citocinas como: la IL-6, IL-1 e IL-23. Ésta última citocina ha resultado ser más importante para la proliferación y el mantenimiento de los linfocitos Th17 que para su inducción. Se ha encontrado que el IFN γ y la IL-4 inhiben la diferenciación de linfocitos Th17, de manera que las respuestas Th1 y Th2 inhiben el desarrollo de las respuestas Th17. Los linfocitos Th17 producen IL-21, citocina que puede potenciar más su desarrollo, proporcionando un mecanismo de amplificación de la respuesta (Díaz MD *et al*, 2013).

Diversos estudios demuestran la participación de las células Th17 en la resistencia a diversos agentes patógenos como: *Listeria*, *Salmonella*, *Toxoplasma*, *Cryptococcus*, *Leishmania* y *Francisella* (Díaz MD *et al*, 2013). También se ha encontrado que los virus inducen la respuesta de células Th17 productoras de IL-17 que se traduce en la producción de interferones antivirales (Barcenilla RH *et al*, 2009). Por lo que las células Th17 desempeñan un papel muy importante en el control de la infección, inducción y propagación de la autoinmunidad, de manera que la expresión de la citocina IL-17 producida por estas células se ha asociado con distintas enfermedades autoinmunes y respuestas alérgicas (Díaz MD *et al*, 2013).

Finalmente en la diferenciación de las células reguladoras Treg, la presencia del factor de crecimiento transformante beta activa al factor de transcripción Foxp3 el cuál es fundamental para su desarrollo. Cuando hay TGF β en el medio, la IL-6 bloquea la actividad de ROR α y ROR γ t (ó RORC en humanos), conduciendo a las células T CD4⁺ vírgenes a diferenciarse a células Treg. Las células Treg actúan de manera esencial en el proceso de tolerancia frente antígenos propios, ya que inhibe la activación del sistema inmune y mantiene su homeostasis (Fernández ÁS, 2011). Ver Figura 2

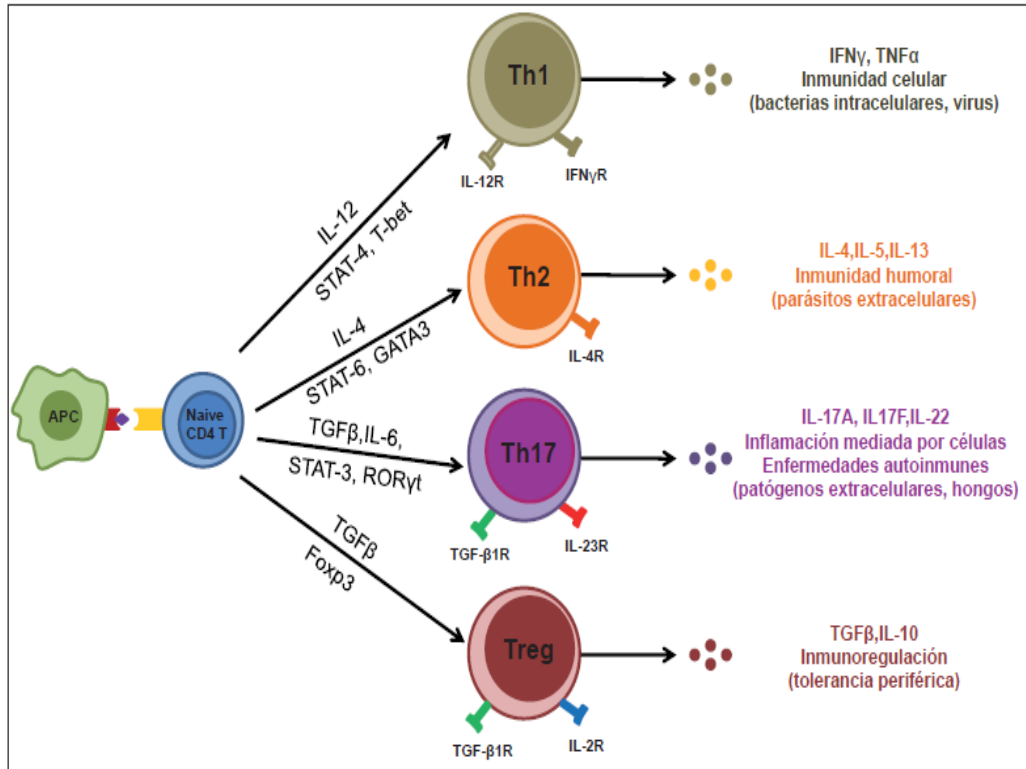


Figura 2. Diferenciación de células TCD4⁺ *naive*

Fuente: Fernández ÁS. Linfocitos T Productores de IL-17 en Patologías Autoinmunes Humanas. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina, Universidad de Córdoba, España, 2011, pp. 1-189.

En la actualidad, se han propuesto otros linajes de linfocitos Th potenciales que son los siguientes: Células Th3 (células TCD4⁺ productoras de TGFβ), células Th9 (células T CD4⁺ productoras de IL-9) y Tfh (linfocitos Th foliculares, ubicados en las regiones foliculares de los ganglios linfáticos y el bazo). Por último y más recientemente, las células Th22 que expresan IL-22 pero no IL-17 o RORγt (Díaz MD *et al*, 2013).

2. INTERLEUCINA 17 (IL-17)

2.1 Estructura y características

La familia de citocinas provenientes de la diferenciación de las células Th17 fue descubierta hace pocos años, como su nombre lo indica, las células Th17 producen una serie de citocinas, entre las que se reconoce principalmente a la familia IL-17, no obstante, las células Th17 también producen otras citocinas como: IL-21 e IL-22, además de otros factores solubles, entre los que se encuentran algunas quimiocinas. Entre las principales quimiocinas producidas por los linfocitos T productores de IL-17A se encuentran: CXCL1, CXCL2, CXCL5 y CCL20, siendo esta última la de mayor relevancia de todas las producidas por las células Th17 (Fernández ÁS, 2011).

La función primaria de las células Th17 es la eliminación de agentes patógenos como parásitos extracelulares y hongos que no han sido adecuadamente manejados por linfocitos Th1 o Th2. Las células Th17 han sido señaladas como potentes inductoras de la inflamación asociadas a varias enfermedades autoinmunes experimentales y condiciones inflamatorias como: encefalitis autoinmune experimental (EAE), esclerosis múltiple (MS), artritis reumatoide (RA), psoriasis, enfermedad de Chron y artritis inflamatorias (Romero SC *et al*, 2010).

La familia de citocinas de IL-17 se encuentra constituida por 6 miembros, que van desde la IL-17A a la IL-17 F, siendo de mayor importancia clínica estas dos citocinas.

La interleucina 17A (IL-17A) es una citocina proinflamatoria proveniente principalmente de células Th17, sin embargo existen otras fuentes para su producción, como lo son las células $\gamma\delta$, las células NKT y las células T CD8⁺, entre otras. Esta citocina fue descubierta en 1993 y actualmente se ha reconocido que ejerce su función principalmente sobre células mieloides y células

mesenquimales al inducir la expresión del factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), de la IL-6 y de otras quimiocinas, las cuales incrementan la granulopoyesis y reclutan neutrófilos hacia el sitio de infección (Flores GY y Talamás RP, 2012).

La IL-17A humana es una glicoproteína homodimérica que consiste de 155 aminoácidos con un peso molecular aproximado de 35 kDa. Se ha encontrado que la IL-17F presenta una homología del aproximadamente el 60% con la IL-17A en su secuencia de aminoácidos, pero presentan funciones opuestas entre sí. Los genes que codifican para estas citocinas se encuentran agrupados en el cromosoma 14A en el ratón y en el 6p12 en el humano. Se ha encontrado que la IL-17A y la IL-17F pueden ser secretadas como homodímeros además de heterodímeros, siendo el heterodímero IL-17A/F más potente que la IL-17F pero menos potente que la IL-17A en la inducción de la expresión de quimiocinas (Flores GY y Talamás RP, 2012).

2.2 Receptor de la familia IL-17

Actualmente la familia del receptor para la IL-17 se compone de 5 miembros denominados: IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD e IL-17RE, siendo el receptor IL-17RA el primero en descubrirse en 1995 y el que presenta mayor afinidad por la IL-17A que por la IL-17F. Los receptores pertenecientes a esta familia son proteínas transmembrana tipo 1 y todos presentan homología en su secuencia (Figura 3) (Chunfang G *et al*, 2013). Todos los miembros de esta familia de receptores poseen en la parte extracelular un dominio de fibronectina III y un dominio SEF/IL-17R (SEFIR) en el dominio intracelular (Song X y Qjan Y, 2013).

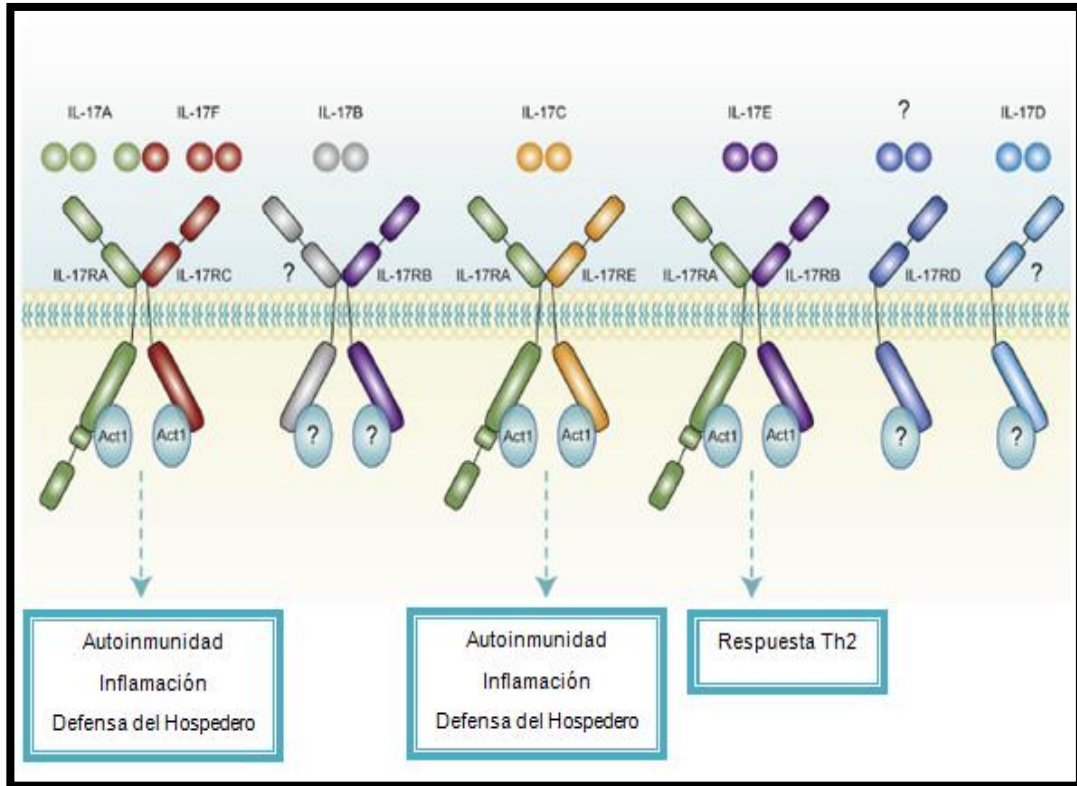


Figura 3. Muestra los receptores pertenecientes a la familia de IL-17. La IL-17A e IL-17F forman un homodímero o heterodímero para unirse al complejo heterodimérico IL-17RA-IL-17RC y desencadenar la señalización de la defensa del huésped y la patogénesis inflamatoria de enfermedades autoinmunes. Aunque se ha observado la interacción física de IL-17B y la IL-17RB, las funciones biológicas de esta pareja aún no se conocen. Se ha asociado a IL-17C con el complejo de IL-17RA-IL-17RE para activar la señalización de la defensa del huésped y la patogénesis inflamatoria de enfermedades autoinmunes. La IL-17E se une al complejo IL-17RA-IL-17RB para mediar la señalización de la respuesta Th2. El receptor para IL-17D no ha sido identificado. Algunos estudios relacionados con el receptor de la IL-17 señalan que Act1 se ha identificado como un receptor clave de enlace molecular de IL-17A, IL-17F, IL-17C y la señalización mediada por IL-17E.

Fuente: Song X y Qjan Y. IL-17 family cytokines mediated signaling in the pathogenesis of inflammatory diseases. *Cell Signal* 2013; 25:2335-2347.

El receptor IL-17RA se expresa de manera ubicua en diversos tejidos y células, por ejemplo: en el tejido hematopoyético, en varias células mieloides, células epiteliales, fibroblastos, células endoteliales y osteoblastos (Flores GY y Talamás RP, 2012). Este receptor fue considerado durante mucho tiempo como el único

receptor para la familia de IL-17. No obstante, más tarde se descubrieron otros receptores como: IL-17RB, IL-17RC e IL-17RE los cuales resultaron ser específicos para la IL-17E, la IL-17A así como la IL-17F e IL-17C respectivamente. Mientras que el receptor IL-17RD también denominado como Sef se encontró que regulaba la señalización de IL-17A.

La IL-17RA es un receptor que forma complejos heterodiméricos con IL-17RB, IL-17RC e IL-17RE. Todos los receptores de la IL-17 reclutan Act1 como molécula adaptadora de señalización. Las señales de la IL-17A e IL-17F a través del complejo IL-17RA-IL-17RC, desencadenan la activación TRAF6 dependiente de la transcripción del gen diana y a TRAF6 independiente de IKKi y dependiente de la estabilización de mRNA, siendo ambos importantes para la defensa del huésped y contribuyen a la patogénesis de enfermedades autoinmunes y cáncer.

La señalización de IL-17 está estrechamente controlada en diferentes niveles de la cascada de señalización. A nivel del receptor, la IL-17RD interactúa basalmente con Act1, secuestrándolo de IL-17RA y TRAF6 hasta la estimulación de IL-17. Los TRAFs como TRAF3 y TRAF4 actúan para interrumpir la formación de complejos de señalización. Mientras TRAF3 se une a la IL-17R para prevenir el reclutamiento de Act1 y TRAF6; TRAF4 compete con TRAF6 para vincular a Act1. Posteriormente las enzimas desubiquitantes como USP25 y A20 regulan el estado de ubiquitinación de TRAF (como TRAF5 y TRAF6), deteniendo la cascada de señalización. La IL-17A dependiente de micro-RNA y miR-23b regulan la activación del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NFκB). Mientras que los factores de transcripción inducidos por la IL-17A tales como C/EBPδ inhiben la expresión de genes inflamatorios.

La señalización de IL-17E (IL-25) se realiza a través del complejo receptor de IL-17RA-RB que inducen respuestas Th2 mediante la activación de vías MAPK y NFκB. Mientras que las señales de la IL-17C se realizan mediante el complejo IL-17RA-RE, siendo esta interacción la que media la defensa del huésped y al

igual que la IL-17A contribuye a la patogénesis de enfermedades autoinmunes. Se ha demostrado que la IL-17B interactúa con IL-17RB, sin embargo, su función biológica es todavía poco clara. Finalmente el receptor para la IL-17D aún se desconoce (Figura 4) (Chunfang G *et al*, 2013).

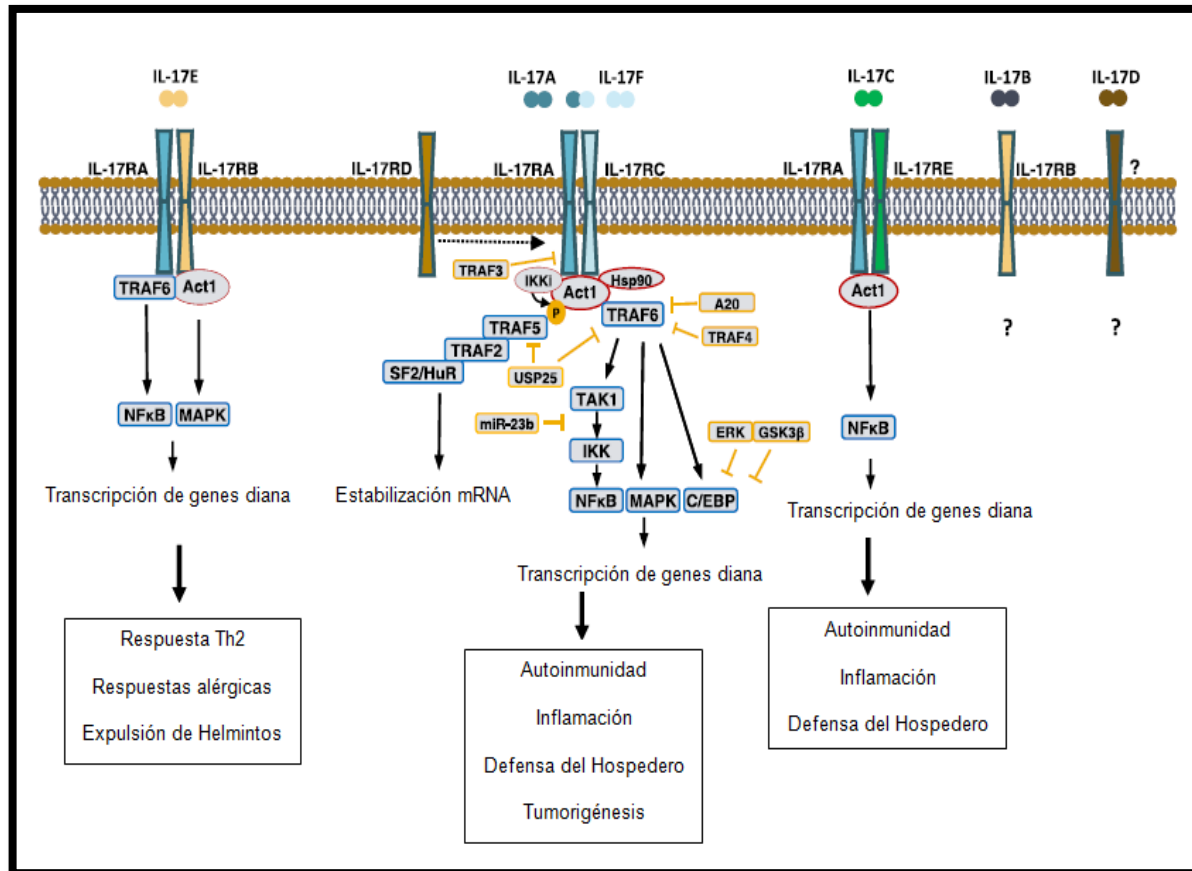


Figura 4. IL-17, receptores de citocinas y de señalización

Fuente: Chunfang G, Ling W y Xiaoxia L. IL-17 family: Cytokines, receptors and signaling. *Cytokine* 2013; 64:477-485.

2.3 Vía de señalización para la IL-17

En un inicio, el conocer como funcionaba la vía de señalización para la IL-17 resultaba difícil debido a que la familia IL-17 no presentaba homología con otras citocinas. Sin embargo, los primeros estudios mostraron que la IL-17 podía activar

la vía de señalización del factor nuclear κ B (NF- κ B), en conjunto con Act1 y la ligasa E3 de ubiquitina (Flores GY y Talamás RP, 2012)

Otros estudios revelaron que la IL-17 inducía la expresión proinflamatoria que se asemejaba a los ligandos TLR y TLRs que están pre-ensamblados antes de la unión al ligando. El factor de necrosis tumoral asociado al receptor del factor 6 (TRAF6), que es un adaptador clave en las cascadas de señalización de los TLR e IL-1R, demostró ser indispensable para la activación de IL-17 mediada por la vía NF- κ B. Sin embargo, el adaptador intermedio entre IL-17RA y TRAF6 permaneció desconocido por un tiempo (Xu S y Cao XT, 2010).

Fue hasta el año 2003, que mediante el uso de un logaritmo de bioinformática se logró un descubrimiento clave. Un dominio conservado "SERIF" (abreviatura de SER/IL-17R) fue identificado en la cola citoplasmática de todos los IL-17Rs, este tiene similitud con el dominio "Toll/IL-1R(TIR)" de TLRs e IL-1R y es fundamental para el reclutamiento del factor de diferenciación mieloide 88, el dominio TIR contiene un adaptador de proteína inductora de IFN- β y otros factores. La delección o mutación puntual de este dominio de la IL-17RA deteriora la activación de la IL-17A por NF- κ B. Posteriormente un análisis más detallado reveló que SERIF carece del bucle-BB, componente fundamental de la especificidad de los dominios TIR, esto tal vez explique porque no pueden participar activadores asociados a TLR y sugiere la existencia de diferentes productos intermediarios. Sin embargo, una región llamada bucle TIR solo se encuentra en el extremo C-terminal de SERIF de la IL-17RA siendo esto lo que podría explicar las funciones de la IL-17RA como una subunidad común a todos los demás miembros de la familia de IL-17Rs (Xu S y Cao XT, 2010).

Investigaciones posteriores encontraron que Act 1 (también conocido como CIKS), un activador del NF- κ B, previamente vinculado al factor de activación de las células B y la señalización de CD40L, también contenía un dominio SERIF. Act1 es reclutado en pocos minutos después de la estimulación de IL-17A y se

une a IL-17RA mediante interacciones dependientes de SERIF. Por otra parte, Act1 contiene un sitio de unión a TRAF6 y por lo tanto tiene capacidad de unirse a TRAF6 y TGF- β activado por la cinasa 1 para entregar señales desencadenantes, lo que resulta en la activación de la vía canónica de NF- κ B. La deficiencia de Act1, hace que las células no respondan a la IL-17A, sugiriendo un fuerte papel esencial en la señalización de inactivación de IL-17RA. En consecuencia, la vía Act1/TRAF6/NF- κ B se ha elucidado que puede ser la vía de señalización más importante de la IL-17A (figura 5) (Xu S y Cao XT, 2010).

Después que Act1 se une al complejo receptor, TRAF6 es reclutado a través de la interacción de sitios de unión de Act1 y TRAF6. El dominio enzimático U-box de Act1 sirve como ligasa E3 de ubiquitina, que facilita la vinculación de ubiquitinación de Lys63 de sus proteínas diana para posteriores interacciones proteína-proteína. Ensayos *in vitro* de ubiquitinación revelaron que Act1 media la vinculación de Lys63 y la ubiquitinación de TRAF6 a través de su dominio U-box. TRAF6 poli-ubiquitinada activa de manera negativa a TRAF6 dependiente de TGF β -cinasa activada 1 (TAK1) para la activación de NF- κ B (Chunfang G *et al*, 2013).

Considerando que TRAF6 es esencial para la activación de IL-17A-dependiente de NF- κ β y de las cascadas MAPK, TRAF2 y TRAF5 están involucrados en la estabilización de ARNm de la IL-17A-dependiente a través de la activación de IKKi. La deficiencia de IKKi elimina la formación del complejo Act1/TRAF2/TRAF5/ASF y resulta en la pérdida de la estabilidad de ARNm sin afectar la actividad de Act1-TRAF6- NF- κ B (Chunfang G *et al*, 2013).

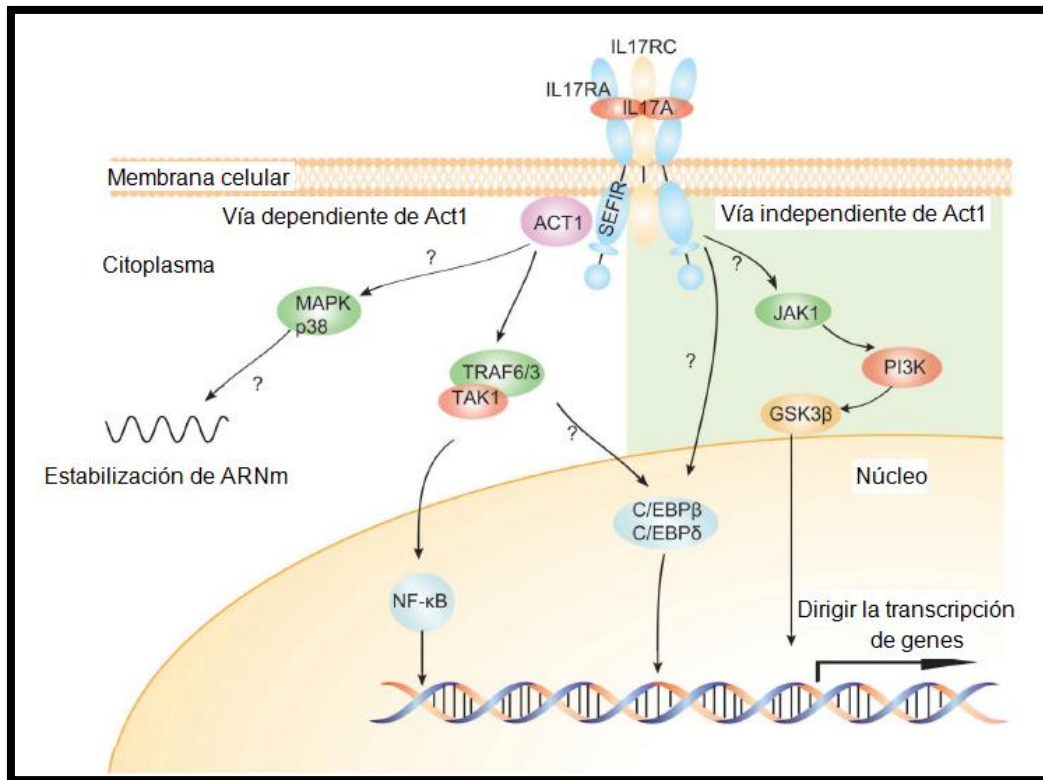


Figura 5. Vía de señalización de IL-17. El complejo IL-17R se compone dos: IL-17RA y un IL-17RC, ambas subunidades codifican para dominios SERIF. Después de la activación, la señalización intracelular de la IL-17 incluye vías dependiente e independiente descendentes de Act1. A la izquierda se encuentra: La vía dependiente de Act1: La IL-17RA compromete su dominio SERIF al reclutar a Act1, una proteína adaptadora. Act1 contiene un sitio de unión para TRAF6 y se puede unir a TRAF6, TRAF3 y TAK1, conduciendo posteriormente a la activación de la vía canónica de NF- κ B. También se requiere de Act1 para la activación de MAPK p38 y esta vía conduce a la estabilización de ARNm, particularmente los que codifican para quimiocinas y citocinas. A la derecha se encuentra: La vía Act1 independiente que implica a JAK1 y PI3K, seguido de la posterior inactivación de GSK-3 β . Ambas vías Act1 dependiente e independiente contribuyen a la activación de los factores transcripción C/EBP- β y EBP- δ .

Fuente: Xu S y Cao XT. Interleukin-17 and its expanding biological functions. *Cell & Mol Immunol* 2010; 7: 164–174.

Además del complejo Act1/TRAF2/TRAF5/SF2(ASF), se ha descubierto recientemente que un complejo SF2(ASF)-independiente, compuesto de Act1/TRAF2/TRAF5 y HuR, una proteína de unión, puede mediar la IL-17A

dependiente de la estabilización de ARNm. La estimulación de IL-17 A llevó a la poliubiquitinación de Act1 dependiente de HuR, siendo necesario que HuR se enlace al 3'-UTRs del ARNm de CXCL1. Por lo tanto, la inducción de IL-17 por la estabilización de mRNA a través de la vía TRAF6- independiente juega un papel importante en la regulación de la expresión coordinada de citocinas proinflamatorias y quimiocinas (Chunfang G *et al*, 2013).

Por lo descrito anteriormente se puede notar que la vía de señalización de la IL-17 aún está lejos de ser entendida completamente, no obstante, se siguen realizando estudios para lograr una mejor comprensión de esta vía.

2.4 Regulación de la señalización para IL-17

Debido a que la familia de IL-17 se considera una familia de citocinas relativamente nueva, su señalización resulta aún un paradigma que descubrir, sin embargo, diversos estudios demuestran que la señalización de esta citocina debe estar bajo un control estricto para evitar la inflamación persistente o nociva (Song X y Qian Y, 2013).

Un estudio informó que la IL-17 fosforila de manera secuencial a C/EBP- β en Thr188 y Thr179 en su segundo dominio regulado por las cinasas ERK Y GSK3- β . La doble fosforilación de C/EBP- β inhibe la expresión de genes proinflamatorios inducidos por la IL-17. Aunque esto representa el primer informe del control negativo de las señalización de la IL-17, estudios más recientes han identificado mecanismos reguladores clave del eje IL-17R-Act1 (ver figura 3) (Song X y Qian Y, 2013)

Varios estudios confirman que diversas proteínas, enzimas, factores de transcripción o incluso un receptor de la IL-17 participan en la regulación de la vía de señalización de la IL-17, como lo son: TRAF3, TRAF4, USP25, A20, miR-23b, IL-17RD, entre otros más.

TRAF3 es una proteína adaptadora, comúnmente utilizada por los TLRs y RIG-1 para mediar la producción de interferón tipo 1 para respuestas antivirales. También es un importante regulador negativo para la señalización de la familia de TNF, tales como la señalización de CD40 o BAFF, a través de su control de activación no canónico de NF- κ B. Recientemente, se ha encontrado que TRAF3 juega un papel importante como regulador negativo en la señalización de IL-17. Y que la sobreexpresión de esta proteína conduce a la supresión de la activación IL-17 mediada por el NF- κ B y MAPKs y la producción de citocinas proinflamatorias. Mientras que la eliminación de TRAF3 resulta en una activación exacerbada de NF- κ B y MAPKs, así como la inducción de citocinas proinflamatorias. Mecánicamente, TRAF3 se une directamente a IL-17R e interfiere con la formación del complejo de señalización de IL-17R-Act1-TRAF6, por lo tanto compromete la actividad de la señalización de IL-17. La evidencia genética también mostró que TRAF3 controla la expresión de genes inflamatorios inducidos por la IL-17 *in vivo* y en consecuencia suprime la patogénesis de la enfermedad autoinmune encefalitis autoinmune experimental. Por lo tanto TRAF3 es un receptor negativo proximal regulador de eventos de señalización mediados por Act1 en la señalización de IL-17(Song X y Qian Y, 2013).

Otra proteína similar a TRAF3, es TRAF4 quién también pasó últimamente a ser un modulador negativo de la señalización de la IL-17 y utiliza los mismos sitios de unión de TRAF como la de TRAF6 en Act1, compitiendo con TRAF6 para la unión con Act1 (Tabla 2). Ratones deficientes de TRAF4 muestran un marcado aumento de la IL-17 dependiente de la señalización y expresión de citocinas. Por lo tanto, TRAF4 también sirve como regulador negativo interfiriendo con la formación del complejo de señalización positiva a un nivel diferente (Chunfang G *et al*, 2013).

Tabla No 2. Regulación de la vía de señalización de IL-17

Nombre	Descripción
Negativo	
TRAF4	Compite con TRAF6 para unirse con Act1
TRAF3	Se une a la IL-17R para interferir con la formación del complejo de IL-17R-Act1-TRAF6
USP25	Restringe la ubiquitinación de TRAF5 y TRAF6 para regular negativamente la señalización de IL-17 y la estabilización del ARNm
A20	Interactúa directamente con el dominio distal de IL-17RA y media la desubiquitinación de TRAF6
C/EBPβ	Se fosforila por ERK y GSK-3b e inhibe la expresión de los genes diana de IL-17 inducidos por IL-17
miR23b	Inhibe la IL-17 inducida por la activación NF-κB
IL-17RD	Interrumpe la interacción de Act1 y TRAF6 para inhibir la activación de NF-κB
Positivo	
NFκBIZ	Necesario para la expresión de genes inducidos por la IL-17A
IL-17RD	Mejora de señalización MAPK de la IL-17A-dependiente y el reclutamiento de neutrófilos a través de MIP-2

Fuente: Chunfang G, Ling W y Xiaoxia L. IL-17 family: Cytokines, receptors and signaling. *Cytokine* 2013; 64:477-485.

La ubiquitina-proteosoma mediada por vía de degradación de proteínas es una estrategia ampliamente utilizada para la desensibilización de la señalización mediante la eliminación de los componentes clave de la señalización. Recientemente, se ha encontrado que la degradación de Act1 lleva a la supresión de los complejos de señalización positiva relacionados con Act1 y por lo tanto, la desensibilización de la señalización de IL-17(Song X y Qian Y, 2013).

Otros estudios señalan que IKKi y la otra cinasa TBK1 son asociados con Act1 de manera dependiente a la IL-17. También se encontró que la estimulación de IL-17 activa dos cinasas y que ambas cinasas fosforilan a Act1 en otros 3 sitios

de Ser y la fosforilación de estos sitios en Act1 disminuyen la interacción con TRAF6 y en consecuencia se suprime la activación de la señalización de IL-17 por la vía NF- κ B. También se encontró que hay un ciclo de retroalimentación negativa en el complejo Act1-TRAF6-cinasas IKK relacionadas con Act1 en la señalización de IL-17R (Song X y Qian Y, 2013).

Un estudio describe una función previamente desconocida para la enzima desubiquitinante USP25 en la restricción de la señalización de IL-17. Esta función es que USP25 puede regular negativamente la señalización de IL-17 mediante la restricción de la condición de ubiquitinación de TRAF5 y TRAF6. Otra desubiquinasa es A20, un supresor de tumores codificado por TNFAIP3 (TNF- α -proteína inducida 3), la cual se descubrió recientemente que puede interactuar directamente con el dominio distal de IL-17RA y asociarse con TRAF6 en IL-17-dependiente, de manera que se restringe la activación de IL-17 dependiente de NF- κ B y MAPK (Chunfang G *et al*, 2013).

Se ha encontrado que miR-23b suprime la actividad del NF- κ B y la expresión de citocinas inflamatorias por la orientación de varios mediadores de señalización positiva, incluyendo Tab2, Tab3 e IKKi- α . Por lo tanto, la inhibición de miR-23b por la IL-17 proporciona un ciclo de retroalimentación positiva para la activación de la vía NF- κ B y la expresión de genes proinflamatorios en respuesta a IL-17(Chunfang G *et al*, 2013).

Un receptor de IL-17 ha demostrado participar en la regulación de la señalización de la IL-17, este receptor es el IL-17RD que su deficiencia resulta en un aumento de la activación de IL-17A dependiente del NF- κ B y el aumento de IL-6 y la expresión de KC, sin embargo, reduce la activación de MAPK y disminuye la expresión de MIP2 en la estimulación de IL-17A. Se ha demostrado que la IL-17RD interactúa con la IL-17RA y Act1 a través de la interacción del dominio SERIF-SERIF como medio para interrumpir la unión de Act1 a TRAF6, inhibiendo de este modo el mecanismo de activación del NF- κ B para la IL-6 y la expresión de

KC. Sin embargo, el mecanismo por el cual la IL-17RD transmite a IL-17A-dependiente de la activación de MAPKS aun no se ha encontrado. Se requiere de estudios adicionales para determinar si la IL-17RD también participa en los complejos receptores de otros miembros de citocinas de la IL-17 (Chunfang G *et al*, 2013).

Más recientemente se ha identificado que el extremo N-terminal altamente conservado para Act1 es necesario para la interacción de Hsp90. Las deleciones y mutaciones que se producen en el extremo N-terminal afecta su capacidad para unirse a la Hsp90 y deroga la señalización dependiente de la 17, debido a la posibilidad de un plegado incorrecto de la proteína adaptadora. Curiosamente, la interacción entre Act1 y Hsp90 mejora después de la estimulación con IL-17, lo que sugiere un posible papel de Hsp90 como andamio de proteínas en la cascada de señalización de IL-17 (Chunfang G *et al*, 2013).

2.5 Funciones Biológicas de la citocina

Se ha descrito que la IL-17 ha demostrado participar en procesos inflamatorios y autoinmunes por lo que se ha asociado a esta citocina en distintas patogenias. Por lo que las funciones biológicas de la IL-17 han sido estudiadas casi desde su descubrimiento. Entre los principales blancos de esta citocina se encuentran: las células mesenquimales y las células mieloides. Mientras que entre sus genes blanco se incluyen aquéllos que codifican para citocinas pro-inflamatorias, citocinas hematopoyéticas, quimiocinas, péptidos antimicrobianos y moléculas útiles en la remodelación de tejido, dependiendo del tipo celular y enfermedad (Flores GY y Talamás RP, 2012).

La IL-17A ejerce efectos sobre la expansión de los neutrófilos (a través del G-CSF) y quimiotaxis (regulada por quimiocinas CXCL). Diversos experimentos sugieren que la IL-17 induce inflamación del tejido, principalmente al estimular la

expresión de varias citocinas pro-inflamatorias tales como la IL-6, TNF- α , G-CSF, GM-CSF, entre otras. Esta citocina también incrementa la expresión del ligando activador de NF- κ B en la membrana de los osteoclastos y promueve la osteoclastogénesis y la subsecuente destrucción del hueso. Las metaloproteasas han demostrado ser blanco de la IL-17, estas desempeñan un papel importante en la destrucción de la matriz extracelular y daño al tejido y son esenciales en la angiogénesis tumoral (Flores GY y Talamás RP, 2012).

Las funciones biológicas de la IL-17B y la IL-17D aún no están del todo claras. En el caso de la IL-17C la realización de diversos estudios han comenzado a descubrir los efectos fisiológicos y funciones patológicas de esta citocina. La IL-17C es inducida específicamente en las células epiteliales y queratinocitos por agentes patógenos o citocinas inflamatorias. La IL-17C al igual que la IL-17A activa vías de señalización comunes incluyendo NF- κ B y MAPK para inducir la producción de genes de los péptidos antibacterianos, citocinas inflamatorias y quimiocinas. La IL-17C también dirige a las células Th17 para promover la producción de IL-17. Por otra parte, estudios funcionales *in vivo* demostraron que la vía de IL-17C-IL-17RE es crítica para la protección contra la infección por agentes patógenos intestinales, así como la patogénesis de varias enfermedades autoinmunes que incluyen la psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal (IDB) y la esclerosis múltiple (MS) (Song X y Qian Y, 2013).

La IL-17E también conocido como IL-25, tiene funciones diferentes a las de la IL-17A e IL-17F. Se ha encontrado que esta citocina puede promover la inmunidad de células Th2 a través de la inducción de IL-4, IL-5 e IL-13 (Song X y Qian Y, 2013).

Finalmente, estudios realizados con la IL-17F revelan su contribución en enfermedades autoinmunes y alérgicas pero su función es menor que la producida por la IL-17A. Se considera que la IL-17F desempeña un papel protector en la defensa del huésped contra la infección. De manera que, la IL-17F desempeña un

papel menos importante que el de la IL-17A en enfermedades autoinmunes y alérgicas, debido a que tiene menor capacidad de activación para inducir genes inflamatorios (Song X y Qian Y, 2013).

3 INDUCTORES DE LA PRODUCCIÓN DE INTERLEUCINA 17

Para la producción de IL-17 se requiere de la participación de diversas citocinas pro-inflamatorias, inmunoregulatoras así como de diversos factores de transcripción. La diferenciación hacia esta subpoblación celular se realiza por la presencia de IL-6 y TGF β que mediante la activación de STAT3, los receptores nucleares de ácido retinoico ROR γ t y ROR α y el factor 4 regulador del interferón IRF4 como de factores de transcripción esenciales dan lugar a la síntesis y liberación de IL-17A (Fernández ÁS, 2011).

A continuación se describen brevemente algunas de las características y funciones de las moléculas que participan en el proceso de la diferenciación hacia células Th17, así como su importancia en la participación de este proceso.

3.1 Citocinas proinflamatorias

Dentro de las citocinas pro-inflamatorias que participan en la diferenciación de las células Th17 se encuentran la IL-6, IL-23 e IL-1.

La IL-6 es una citocina pleiótrica que ejerce efectos inflamatorios así como anti-inflamatorios dependiendo de su contexto celular. Esta citocina es un factor importante durante la hematopoyesis (Babon JJ *et al*, 2014). Díaz Martin D y colaboradores en su artículo publicado en 2013 informan que en respuestas a bacterias y hongos, se estimula la producción de esta citocina, así como de la IL-1 e IL-23. Se ha encontrado que la subpoblación celular Th17 requiere de la presencia de esta citocina así como de otros factores para la producción de citocinas pertenecientes a esta familia. Sin embargo, varios estudios independientes demostraron más tarde que se requería de la combinación de esta citocina y del TGF- β para lograr la diferencia *de novo* de las células Th17 a partir de células Th vírgenes en ratones estimulados (Flores GY y Talamás RP, 2012).

La IL-23 es una citocina secretada por las células dendríticas y los macrófagos (Nembrini Ch *et al*, 2014), es un heterodímero compuesto por las subunidades p40 y p19 (Fernández ÁS, 2011). Díaz Martín D y colaboradores mencionan en su artículo denominado “Funciones efectoras de los linfocitos T” que la IL-23 ha resultado ser más importante en la proliferación y mantenimiento de los linfocitos Th17 que para su inducción. Por otra parte también se ha encontrado que la IL-23 promueve la expresión de la IL-17 así como de quimiocinas pro-inflamatorias pero no de la IL-10. De manera que el TGF β e IL-6 habilitan el inicio de la diferenciación hacia el linaje Th17 al mismo tiempo que restringen su potencialidad patogénica. Siendo la adquisición de esta función patógena por efectores Th17 mediada más por la IL-23 que por la IL-6. (Antonio GR, 2013).

Un estudio realizado con ratones deficientes de IL-23 revela que estos están completamente protegidos de enfermedades autoinmunes, mientras que los ratones deficientes en IL-17A e IL-17F son protegidos sólo en parte de estas enfermedades (Nembrini Ch *et al*, 2014).

Hace pocos años, se encontró que la IL-1 también participaba en este proceso de diferenciación, por lo que, algunos autores la consideran una citocina pro-inflamatoria participante. La IL-1 es una citocina pleiotrópica que actúa sobre un gran número de células, siendo su característica más relevante su capacidad para aumentar los niveles de expresión de los factores de transcripción IRF4 y ROR γ t durante el proceso de diferenciación de células TCD4⁺ vírgenes a células Th17. Se considera que esta citocina tiene la capacidad para diferenciar células TCD4⁺ vírgenes hacia células Th17 mediante un efecto sinérgico con IL-6 y/o IL-23. La IL-1 también interviene en el proceso de conversión de células T Foxp3⁺ hacia células productoras de IL-17A (Fernández ÁS, 2011).

3.2 Citocinas inmunoregulatoras

Algunos autores señalan que la IL-23 juega un papel de citocina inmunoregulatora ya que ésta controla en parte la proliferación, además de que mantiene la producción de los linfocitos Th17 (Díaz MD *et al*, 2013). También se ha hallado que la IL-4 funge como citocina inmunoregulatora debido a que en la regulación cruzada entre Th17 y Th1 y/o Th2, el IFN- γ e IL-4 inhiben la expresión de IL-17 y la delección de T-bet promueve fuertemente la expresión de IL-17, tanto en células CD4⁺ como CD8⁺(Antonio GR, 2013).

Por otro lado, se ha demostrado que la IL-27 funciona como un regulador negativo para el desarrollo de la IL-17 y es por esta misma vía que esta citocina limita el desarrollo de la enfermedad inflamatoria crónica del sistema nervioso central (Antonio GR, 2013).

La generación de células Th17 está finamente regulada, debido a que las células Th17 y la IL-17 tienen propiedades patogénicas por la inducción de vías inflamatorias. De manera que las citocinas Th1 y Th2 regulan negativamente el desarrollo de las células Th17. Por otro lado los interferones de tipo I suprimen la generación de Th17 a través de la señalización de STAT1. Mientras que, de manera similar la IL-2 que induce la señalización de STAT5 que también inhibe la diferenciación de las células Th17 mientras que facilita la inducción de células Treg. Finalmente, dentro de otras moléculas inhibitorias se incluyen a la IL-10, la IL-27, el ácido retinoico y el factor de transcripción Ets-1 (Flores GY y Talamás RP, 2012).

3.3 Factores de transcripción

El TGF- β (factor de crecimiento transformante beta) en combinación con la IL-6 participan en la diferenciación de la subpoblación celular Th17. El TGF- β es una proteína homodimérica perteneciente a la superfamilia de factores de crecimiento

y es producida por una gran variedad de células como: plaquetas, células endoteliales, linfocitos y macrófagos. Su función biológica más estudiada es la inhibición de la proliferación y diferenciación de los linfocitos T, además de la activación de los macrófagos. Ensayos *in vitro* con células T humanas en 2008, comprobaron que sólo con la presencia del TGF- β e IL-21 se lograba la diferenciación de linfocitos TCD4⁺ *naive* hacia células Th17 (Fernández ÁS, 2011).

Otro factor de transcripción que participa en el proceso es el receptor “orphan” relacionado con el ácido retinoico γ t (ROR- γ t) que se ha identificado como el factor de transcripción específico de este linaje celular (Flores GY y Talamás RP, 2012). ROR γ t es el regulador necesario y suficiente para inducción de IL-17 y otros genes involucrados en el desarrollo de células Th17. ROR γ t es inducido por TGF- γ asociado a citocinas pro-inflamatorias como lo son la IL-6, IL-21 e IL-23, que son activadoras de STAT3 (Antonio GR, 2013), vía de señalización que controla la expresión de diversos genes críticos para la adquisición del fenotipo Th17, entre estos genes destacan los de IL-17 α , ROR α , IL-6R e IL-21. La activación de STAT3 también genera la activación de varias citocinas y desempeña funciones críticas en diversos tejidos, por lo que la delección específica de STAT3 en células T, afecta mayormente la expresión de IL-17 e IL-21. Mientras que la delección de SOCS3 incrementa la activación de STAT3 y la cantidad de células Th17 circulantes (Antonio GR, 2013).

Otro miembro perteneciente a la familia ROR, que participa en la diferenciación hacia el linaje Th17, es ROR- α , que tiene un efecto similar a ROR γ t, no obstante, este último resulta ser más potente en esta función que ROR- α . Se ha reportado que durante la diferenciación de las células Th17, la pérdida de STAT3 disminuye notablemente la expresión de ROR- γ t y de ROR- α afectando la diferenciación de las células Th17 y viceversa (Flores GY y Talamás RP, 2012).

Por otro lado, el factor de transcripción denominado Factor (transcripcional) 4 mediado por interferón conocido por sus siglas en inglés como IRF4, resulta ser

crítico para la adquisición de fenotipo Th17 tanto *in vitro* como *in vivo*. La delección del gen IRF4 en modelos murinos resulta en una baja expresión de ROR γ t, incremento en Foxp3 y pérdida de IL-17 (Antonio GR, 2013). Finalmente, se ha descrito que la participación del factor de transcripción 1 relacionado con runt (factor de transcripción no tradicional), inicialmente descrito en *Drosophila* también contribuye en la diferenciación de células Th17, aunque su participación aún no es del todo clara (Flores GY y Talamás RP, 2012).

4 MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE INTERLEUCINA 17

Las citocinas son glicoproteínas solubles de bajo peso molecular, producidas por distintas células del organismo por ejemplo: linfocitos, monocitos/macrófagos, polimorfosnucleares, endoteliales y epiteliales. Estas son importantes en la regulación y en la activación a nivel Intercelular y se considera que son primordiales para la respuesta inflamatoria innata y adaptativa, en el crecimiento y diferenciación celular, en el proceso de apoptosis, de angiogénesis y en los procesos de reparación. Otras funciones importantes son, en el desarrollo de respuestas inmunes específicas, induciendo el tráfico de las células dendríticas, los linfocitos Th1, Th2 y B en el tejido linfoide secundario. Las citocinas, se unen a receptores específicos en la membrana de la célula desencadenando la transducción de señales que llevan a la expresión génica o a la proliferación de estas células (Fula CMC, 2011).

La cuantificación de citocinas ha sido empleada en las últimas décadas por numerosos investigadores para demostrar la participación de estas células en distintas patologías. Su utilización se remonta a pocos años atrás, cuando en 1986, la FDA (Administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos) aprobó por primera vez la utilización de citocinas en la terapia contra enfermedades, permitiendo la administración del antagonista del interferón para el tratamiento de la leucemia de células pilosas. Más tarde en el 2001, se empleó un antagonista del factor de necrosis tumoral, clave en la patogénesis de la artritis reumatoide, esto fue descrito como uno de los avances más importantes en el manejo de esta enfermedad (Fula CMC, 2011).

Entre los marcadores empleados para la detección de citocinas se encuentra: el marcaje con radioactividad, enzimas y con fluorescencia. El primer marcaje utiliza como elementos radiactivos al indio 111(In-111) o al tecnecio 99 metaestable (Tc99m), siendo este último el más empleado. El principio de este marcaje *in vitro*, se basa en la unión de los anticuerpos monoclonales de la citocina con el isotopo radiactivo realizando una interacción antígeno-anticuerpo

desencadenando una emisión de radiación gamma que es captada por los detectores del equipo. La técnica de marcaje con enzimas se realiza por medio de la técnica de ELISA, la cual será abordada más adelante. Finalmente el tercer tipo de marcaje es por medio de fluorocromos y se basa en hacer pasar una suspensión de partículas alineadas que pasan una por una a través de un haz de luz, siendo el impacto de cada célula con el rayo de luz el que excita al fluorocromo produciendo señales que corresponden a diferentes parámetros de la glicoproteína (Álvarez HLP, 2008).

Entre las técnicas más empleadas para la cuantificación de la IL-17 de los artículos revisados se encuentran las siguientes:

4.1 Citometría de Flujo

La citometría de flujo es una técnica que se basa en hacer pasar células u otras partículas en suspensión alineadas dentro de un flujo a través de un haz a una velocidad de 500-4000 partículas/segundo. Cuando esto sucede, es posible realizar la medición simultánea de múltiples características de una sola célula de tal forma que es posible caracterizar, separar y cuantificar las diferentes subpoblaciones celulares que se engloban en un conjunto (March RGA y Eiros BJ, 2012).

En esta técnica se emplean comúnmente fluorocromos específicos que interaccionan con las células específicas, dando como resultado un cambio de coloración, el cual es detectado por el equipo y la señal generada es transducida generando una serie de datos como los histogramas, en los que se relacionan distintas propiedades, por ejemplo: el tamaño de la población celular, tipo de partícula, complejidad, entre otros.

El kit más usado para la cuantificación de la IL-17 es distribuido por BD Biosciences, este kit varía dependiendo del modelo que se empleó en el experimento, la enfermedad en estudio en el que se desea emplear y el citómetro de flujo a utilizar entre otros factores más.

Entre los anticuerpos más empleados para la detección de citocinas por medio de citometría de flujo se encuentran los mencionados en la tabla 3:

Tabla No. 3 Anticuerpos usados en la detección de citocinas por citometría de flujo (CF)

Especificidad	Fluorocromo	Laboratorio
IL-10	PE	BD
TNF- α	PerCP-Cy5.5	BD
IFN- γ	PerCP-Cy5.5	BD
IL-17	PE	eBiosciences

Fuente: Prado CC. Células T efectoras y reguladoras en el lupus eritematoso sistémico efecto de los corticoides sobre la expresión de FoxP3 y la producción de IL-17. *Tesis Doctoral*, Universidad de Oviedo, España, 2012, pp. 1-243.

Por otra parte entre los anticuerpos utilizados para la detección de marcadores intracelulares relacionados con la IL-17 por citometría de flujo se muestran a continuación:

Tabla No. 4 Anticuerpos empleados en la detección de marcadores intracelulares por Citometría de Flujo

Especificidad	Fluorocromo	Laboratorio
FOXP3	PE	eBiosciences
	PE	BD
CTLA-4	PE	BD

Fuente: Prado CC. Células T efectoras y reguladoras en el lupus eritematoso sistémico efecto de los corticoides sobre la expresión de FoxP3 y la producción de IL-17. *Tesis Doctoral*, Universidad de Oviedo, España, 2012, pp. 1-243.

Finalmente los anticuerpos más empleados para la detección de marcadores celulares de superficie mediante citometría de flujo son:

Tabla No. 5 Anticuerpos utilizados para la detección de marcadores celulares de superficie por Citometría de Flujo.

Especificidad	Fluorocromo	Laboratorio
CD4	PerCP	BD
	APC	BD
	APC-Cy7	BD
CD25	FITC	Miltenyi Biotec
	PE	Miltenyi Biotec
	FITC	BD
	PE-Cy5	BD
CD127	FITC	eBiosciences
	PE-Cy7	eBiosciences
CD69	FITC	Miltenyi Biotec
GITR	FITC	R&D Systems
CD45RO	FITC	BD
	PE	Miltenyi Biotec
	APC	BD
CCR4	PE-Cy7	BD
CCR6	PerCP-Cy5.5	BD

Fuente: Prado CC. Células T efectoras y reguladoras en el lupus eritematoso sistémico efecto de los corticoides sobre la expresión de FoxP3 y la producción de IL-17. *Tesis Doctoral*, Universidad de Oviedo, España, 2012, pp. 1-243.

La ventaja de esta técnica radica en permitir un análisis celular multiparamétrico de forma rápida, sensible y específica.

Entre los experimentos en los que se ha empleado esta técnica para la cuantificación de IL-17 se encuentran: La caracterización de la IL-17 en patologías como: en la inflamación en mucosa intestinal Inflamatoria de pacientes con enfermedades intestinales (Hovhannisyan Z *et al*, 2012), para demostrar la presencia de células Th17 en la producción de anticuerpos de células B (Shibui A

et al, 2012), en la producción de IL-17 a partir de células T CD8⁺ en el cáncer gástrico (Yuan Z *et al*, 2012), en la inhibición de la IL-17 que promueve la diferenciación de CD25 en pacientes con hepatitis autoinmune (Longhi MS *et al*, 2012), estudios de la participación de la IL-17 en la inmunidad fúngica por medio de las células NK (Bär E *et al*, 2014), estudios de superantígenos que inducen la producción de IL-17 de clonas Th1 polarizados (Yomogida K *et al*, 2013) por citar algunos ejemplos.

4.2 ELISA

La técnica de ELISA (Ensayo de enzima ligada a un inmunoabsorbente) se basa en la interacción de complejos antígeno-anticuerpo o viceversa para detectar la presencia de la célula mediante un cambio de coloración. Una enzima se une covalentemente a una molécula de anticuerpo, creando una herramienta inmunológica con alta especificidad y sensibilidad (Madigan M *et al*, 2012). La técnica de ELISA, utiliza placas de poliestireno con múltiples pocillos que se “tapizan” con el antígeno o con el anticuerpo. La reacción se revela añadiendo el sustrato que al actuar sobre la enzima del conjugado da lugar a un color visible (amarillo, azul, etc) que es cuantificable mediante un colorímetro especial (“Lector de ELISA”) (Gómez E *et al*, 2011). De los artículos consultados la mayoría de los autores usan ELISA “*Sandwich*” (doble anticuerpo). En este tipo de ELISA se recubre el pocillo con un primer anti-antígeno. Después se aplica la muestra problema que contiene al antígeno que quedará retenido en el pocillo al ser reconocido por el primer anticuerpo. Posteriormente se aplica un segundo anti-antígeno marcado y de esta manera las moléculas del antígeno se unen a un anticuerpo de la base que lo retiene y un segundo antígeno, al menos, lo marca. Posiblemente se elija este ensayo debido a su gran especificidad y sensibilidad dada por la amplificación de la señal que permite el segundo anticuerpo (Díaz TC, 2013).

Entre las enzimas más empleadas por esta técnica se encuentran: la peroxidasa, fosfatasa alcalina, luciferasa, glucosa-6-Pdeshidrogenasa, etc.(Gómez E *et al*, 2011).

Algunos ejemplos en los que se ha empleado esta técnica son: en la modulación de la polarización de células Tregs y Th17 en la lesión pulmonar inducida por polisacáridos (Yu ChH *et al*, 2013), para demostrar la presencia de células Th17-IL-17 en la producción de anticuerpos de células B (Shibui A *et al*, 2012), en la producción de IL-17 a partir de células T CD8⁺ en el cáncer gástrico (Yuan Z *et al*, 2012), estudios de la participación de la IL-17 en la inmunidad fúngica (Bär E *et al*, 2014), entre otros más.

4.3 PCR

La reacción en cadena de la polimerasa es una reacción enzimática *in vitro* que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada fielmente. Para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células. En la reacción, si usamos como sustrato ADN genómico, entonces típicamente hablamos de una PCR, pero si usamos ADN complementario (ADNc) proveniente del mRNA (ácido ribonucleico mensajero) se le conoce como RT-PCR (*Reverse Transcription-PCR*, por sus siglas en inglés). Esta conversión se logra mediante una reacción conocida como transcripción reversa y controlada por la enzima transcriptasa reversa, capaz de convertir el mRNA en una molécula de ADNc (Tamay de Dios L *et al*, 2013).

Los elementos importantes en la reacción son el molde (ADN o ADNc), la enzima, los oligonucleótidos o primers, los desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTPs: adenina, timina, citosina y guanina), el ión magnesio (Mg²⁺), una solución

amortiguadora o buffer y H₂O. Todos estos elementos interactúan en tres etapas principales de las que se compone la PCR: desnaturalización, hibridación y extensión. En esta técnica se detecta presencia de la IL-17 por la secuencia de aa de la glicoproteína (Tamay de Dios L *et al*, 2013).

En los experimentos realizados por los autores de los artículos consultados, emplean la RT-PCR para detectar y cuantificar las secuencias específicas de ácidos nucleicos mediante el uso de reporteros fluorescentes en la reacción. Esta técnica se emplea debido a que el sistema garantiza una alta sensibilidad, especificidad y eficiencia (Tamay de Dios L *et al*, 2013).

Algunos ejemplos en los que se puede emplear esta técnica son: en la inhibición de la adipogénesis por la IL-17 (Ahmed M y Gaffen SL, 2013), para determinar la participación de la IL-17 en la inflamación vascular (Usui F *et al*, 2012) así como en el desarrollo de la aterosclerosis (Usui F *et al*, 2012), entre otros más.

5 IMPORTANCIA DE LA INTERLEUCINA 17 EN EL ÁREA CLÍNICA

La IL-17 juega un papel importante en la clínica debido a su participación en distintas enfermedades inflamatorias y autoinmunes. En los años recientes, diversos investigadores han dedicado sus experimentos para descubrir y entender como es que esta citocina colabora en la defensa o progresión de la enfermedad. Entre las enfermedades más estudiadas y que han arrojado información importante de la contribución de la IL-17 se encuentran: artritis reumatoide (RA), psoriasis, esclerosis múltiple (MS), enfermedad inflamatoria Intestinal (IBD), encefalitis autoinmune experimental (EAE), el lupus eritematoso sistémico (SLE), Artritis inflamatorias, enfermedad de Crohn, asma alérgico y distintos tipos de cáncer como: el cáncer de colon, de mama, de ovario, gástrico, entre otras más.

Por ello, este capítulo se ha dividido en varias secciones para una mejor comprensión del papel que desempeña la IL-17 en la clínica.

5.1 IL-17 en la defensa del hospedero

Se ha encontrado que la interleucina 17 tiene múltiples efectos en la protección contra diversos agentes patógenos como: hongos, algunas bacterias y virus. La IL-17 participa en el proceso inflamatorio desempeñando un doble papel, ya que por una parte actúa como protector del hospedero a través del reclutamiento y expansión efectiva de los neutrófilos mediado por quimiocinas CXCL y la inducción del G-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos), sin embargo, esta citocina bajo ciertas condiciones infecciosas, puede no proveer protección, y su función pudiera exacerbar el proceso patogénico (Flores GY y Talamás RP, 2012).

Se ha reportado que tras la infección, la IL-17A e IL-17F se producen de manera rápida en el organismo, tanto por los linfocitos innatos como en las células Th adaptativas. De manera, que las citocinas liberadas a continuación pueden

inducir la expresión de los genes de defensa del huésped por ejemplo: otras citocinas, quimiocinas y expresión péptido antibacteriano en cualquiera de las células epiteliales o queratinocitos para proteger al huésped de los agentes patógenos dañinos (Song X y Qjan Y, 2013). Se ha encontrado que las quimiocinas inducidas por la IL-17 reclutan a otras células inmunes hacia el sitio de la infección, lo cual provee otro mecanismo de protección al hospedero (Flores GY y Talamás RP, 2012).

Algunos autores apoyan la idea de que la IL-17 desempeña un papel protector en las infecciones contra bacterias extracelulares como *Citrobacter rodentium*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*, no obstante aun queda camino que recorrer en este tipo de investigaciones (Song X y Qjan Y, 2013).

Se ha señalado que la IL-17 o en su caso las células Th17 no siempre protegen al hospedero contra la enfermedad, tal es el caso en la infección por *Helicobacter pylori* en el estómago que induce una amplia producción de IL-17 e infiltración de neutrófilos en la mucosa gástrica, llevando a una respuesta inflamatoria patogénica y gastritis en el hospedero, o también como es en la infección contra *Bordetella pertusis* que induce preferentemente IL-23, una citocina inductora de IL-17 e inhibiendo la producción de IL-12, lo cual conlleva a una inflamación severa, destrucción respiratoria y tos persistente (Flores GY y Talamás RP, 2012).

5.2 IL-17 en las enfermedades autoinmunes

Hay evidencia experimental y clínica que la falta de inmunoregulación de las células conllevan al desarrollo de enfermedades autoinmunes, siendo las células CD4⁺, CD25^{alto}, FOXP3⁺ y las células Tregs, las que tienen mayor importancia en el mantenimiento de la homeostasis inmunológica (Longhi MS *et al*, 2012).

En un principio, el concepto de Th17 o inmunidad de la IL-17 surgió de estudios realizados de autoinmunidad, principalmente en modelos murinos y posteriormente en otros animales. Esto no fue posible sino hasta el descubrimiento de la familia de citocinas producidas por las células Th17, ya que al principio se pensaba que las enfermedades estaban medidas por respuestas de tipo Th1, Th2 o enfermedades mediadas por células B (Song X y Qjan Y, 2013).

La característica básica de las enfermedades autoinmunes es la inflamación, no obstante, la susceptibilidad de desarrollar una enfermedad autoinmune está dada por diversos factores como lo son factores ambientales, por ejemplo: la alimentación e infecciones; y de factores genéticos entre los que destacan los genes del MHC y más recientemente relacionado a polimorfismos de un número creciente de secuencias de DNA generalmente correspondientes a promotores de genes relacionados con diferentes elementos del sistema inmune, tales como citocinas por mencionar un ejemplo (Fernández ÁS, 2011).

En estas patologías inflamatorias, generalmente se encuentran involucradas diversas moléculas asociadas a células T productoras de IL-17A (Fernández ÁS, 2011). Entre las enfermedades autoinmunes en las que más se ha estudiado la participación de la IL-17 se encuentran las siguientes:

* Artritis Reumatoide, una enfermedad autoinmune que afecta principalmente las articulaciones sinoviales conduciendo a una pérdida sustancial de la movilidad de los individuos enfermos comparados con los sanos, se ha encontrado en los pacientes un nivel mayor de la citocina IL-17A en su membrana sinovial reumatoide (Song X y Qian Y, 2013).

Diversos estudios demuestran que la IL-17A juega un papel crucial en la artritis reumatoide por la inducción de la inflamación debido a su producción de

citocinas y quimiocinas, además de ser muy importante en los procesos de quimiotaxis (Fernández ÁS, 2011).

Experimentos realizados en modelos murinos han proporcionado algunos datos para comprender mejor el papel que media la IL-17 en el desarrollo de esta enfermedad, el bloqueo de la citocina IL-17A genera una mejora, mientras que su sobreexpresión exacerba la progresión de la enfermedad (Song X y Qian Y, 2013). También por medio de estos modelos se ha demostrado que la IL-17A producida en los espacios articulares de animales con artritis reumatoide aumentó la migración de neutrófilos a sus articulaciones. No obstante, poco se conoce sobre la quimiotaxis de monocitos mediada por IL-17A en artritis reumatoide en humanos, aunque experimentos *in vitro* con ratones señalan que la presencia de IL-17A tiene actividad quimiotáctica sobre monocitos en las mismas concentraciones existentes en el líquido sinovial de la artritis reumatoide. Mientras que otros experimentos en los que bloquean la IL-17A o sus receptores con anticuerpos neutralizantes resultan en una disminución del flujo migratorio de monocitos hacia el líquido sinovial (Fernández ÁS, 2011).

* La psoriasis considerada una enfermedad casi exclusiva del ser humano, se caracteriza por la inflamación crónica de la piel. Esta dermatitis afecta entre el 2-4% de la población mundial (Fernández ÁS, 2011). La causa que conlleva a esta enfermedad aún sigue siendo desconocida, sin embargo se sabe por medio de estudios en humanos y en animales que pueden ser más susceptibles debido a un factor genético y un estímulo, tal vez provocado por una infección que conduce a una serie de eventos coordinados de la vía de señalización, que implican la liberación de citocinas que se producen entre los queratinocitos, células endoteliales, células T, monocitos, macrófagos y células dendríticas (CDs) resultando en la activación del ciclo proliferativo pro-inflamatorio que se mantiene en la respuesta inflamatoria (Golden JB *et al*, 2013).

El tipo de Psoriasis que principalmente se presenta en el área clínica se denomina psoriasis vulgaris, la cual afecta entre el 85-90% de los pacientes, este tipo de Psoriasis se caracteriza por lesiones con placas rojas, descamativas y elevadas en diferentes localizaciones del cuerpo. De manera que desde el punto de vista histológico, la psoriasis incluye la presencia de: neutrófilos en el estrato córneo, además de un significativo infiltrado mononuclear en la dermis y epidermis. También aparecen en esta lesión la adhesión a las células endoteliales activadas de gran cantidad de linfocitos, monocitos y neutrófilos (Fernández ÁS, 2011).

Se ha descubierto que los linfocitos T psoriásicos producen fundamentalmente IFN γ e IL-17A, así mismo también se ha encontrado que todas las células T productoras de IL-17A descritas en esta patología presentan en su superficie CD161 y acceden a la piel debido a su expresión de receptores de quimiocinas CCR4 y CCR6, que median la quimiotaxis a las quimiocinas CCL17 y CCL20 respectivamente (Fernández ÁS, 2011).

Por otra parte, la elevada presencia de citocinas IL-17A e IL-23 en lesiones psoriásicas indica que el eje IL-23/IL-17A está operativo en la enfermedad. Ya que una vez que las células T CD4⁺ vírgenes se diferencian a Th1 o Th17, las citocinas secretadas por cada una de las subpoblaciones diferenciadas activan queratinocitos e inducen a los mismos a la producción de péptidos antimicrobianos, citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF α) y quimiocinas (CXCL8 y CCL20 entre otras), desembocando todo este proceso en un aumento de la proliferación de los queratinocitos, y una amplificación de la respuesta inflamatoria y los rasgos clínicos de la enfermedad (Fernández Álvarez S, 2011).

* La Esclerosis Múltiple, es una enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central en la que las vainas de mielina que protegen los axones del cerebro y la médula espinal se han dañado o perdido. Los datos obtenidos por microarreglos demuestran que la IL-17A se encuentra regulada en las regiones de

la lesión cerebral de los pacientes. Mientras que en las lesiones activas de los pacientes se encontró que había más producción de células Th17 que en las lesiones de los pacientes con esclerosis múltiple inactivos (Song X y Qian Y, 2013).

Varios estudios han revelado que la neutralización de la IL-17 en los ratones deficientes de esta citocina tienden a ser más resistentes a la inducción de encefalitis autoinmune experimental (EAE) y disminuyen la inflamación de las articulaciones. La transferencia adoptiva de células Th17 procedentes de la condición patológica, pero no de células Th1 de ratones recuperados de EAE restablecen a la EAE en los ratones receptores. Por lo que estos datos sugieren claramente un papel central de la IL-17 y de las células Th17 en el desarrollo de enfermedades autoinmunes. Recientemente, la producción de IL-17 por células $\gamma\delta$ también ha sugerido un papel importante en el desarrollo de esta enfermedad. Las células $\gamma\delta$ se consideran una fuente temprana de IL-17 en la inmunidad innata, lo cual pudiera facilitar más tarde la generación de células Th17 por inducción de la secreción de la IL-6 y la IL-23. (Fernández ÁS, 2011).

5.3 IL-17 en las enfermedades intestinales

En el caso de las enfermedades intestinales no existen aún muchos estudios en los que se demuestre la participación de la IL-17. Sin embargo, existen dos enfermedades que se han estudiado con más detalle. La primera es la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) que es una enfermedad autoinmune que daña el intestino. Un estudio demostró en modelos experimentales donde los ratones han sido alterados genéticamente para la expresión de IL-17A (IL-17a^{-/-}) y su receptor IL-17RA (IL-17ra^{-/-}) y para IL-17F (IL-17f^{-/-}), en el cual se les provocó colitis, concluyendo con ello que los animales deficientes en IL-17A presentaron un daño mayor en el epitelio intestinal que los que son deficientes en IL-17F. Este hecho parece indicar que la IL-17A desempeña un papel protector frente a la

enfermedad, mientras que IL-17F contribuye a la producción de daño tisular. La deficiencia en IL-17A conduce a la activación del factor de transcripción T-bet y a la expresión de moléculas solubles asociadas a células Th1, como el IFN γ , hechos que tienen una relación directa con el aumento del daño epitelial en el intestino (Fernández ÁS, 2011).

La enfermedad de Crohn, es una de las formas de enfermedad inflamatoria intestinal que ha demostrado ser accionado por la inflamación mediada por células Th17, encontrándose que hay una mayor expresión de IL-17 en la mucosa intestinal inflamada de los pacientes que padecen la enfermedad de Crohn (Hovhannisyan Z *et al*, 2011).

Otra de las enfermedades más estudiadas es la enfermedad celíaca o esprue celíaco que es un proceso que afecta a la mucosa del intestino delgado. Se presenta en pacientes susceptibles genéticamente y a los intolerantes al gluten tras su ingestión. Mientras la enfermedad se desarrolla, se produce un incremento de linfocitos T en el epitelio y en la lámina propia intestinal y la atrofia de las vellosidades intestinales y la hiperplasia de las criptas. Esta enfermedad está asociada a factores genéticos (genes HLA y no HLA) y a factores ambientales (ingesta de gluten en la dieta). Es una enfermedad sintomática, activa o clásica presenta como síntomas característicos diarrea, pérdida de peso, anemia y debilidad generalizada, con o sin malabsorción, mientras que la enfermedad asintomática o silente no presenta síntomas gastrointestinales o estos no son importantes.

También se ha encontrado que los linfocitos Th17 pueden ser especialmente abundantes en los tejidos mucosos, particularmente del tubo digestivo, lo que indica que el ambiente del tejido influye en la generación de este subgrupo, quizás proporcionando concentraciones locales altas de TGF- β y de otras citocinas. Esta observación también indica que los linfocitos Th17 pueden ser especialmente importantes para combatir las infecciones intestinales y en el

desarrollo de la inflamación intestinal. El desarrollo de los linfocitos Th17 en el tracto digestivo también depende de la población microbiana local (Díaz MD *et al*, 2013).

5.4 IL- 17 en las enfermedades alérgicas

En las enfermedades alérgicas se ha revelado que la IL-17 y las células Th17 participan de manera importante en el desarrollo de varias enfermedades alérgicas las cuales de manera clásica se habían considerado inducidas por las células Th1 y Th2. Tal es el caso del asma alérgico, el cual puede clasificarse en dos tipos: asma atópica y asma no atópica. El asma atópica es una enfermedad inflamatoria crónica en los pulmones que es dominada y caracterizada principalmente por la acumulación y la activación de células Th2, encontrándose también eosinófilos y células cebadas e incremento en los niveles en suero de la IgE. El asma no atópica se caracteriza por la acumulación de células IL-8⁺, neutrófilos y células cebadas sin un incremento en los niveles de IgE en suero (Flores GY y Talamás RP, 2012).

En encuestas de estudios clínicos se encontró que tanto la IL-17A e IL-17F fueron regulados en especímenes bronquiales de pacientes con asma. Así mismo también, que la sobreexpresión tanto de IL-17A como de la IL-17F condujo a una notable infiltración de neutrófilos, pero no de eosinófilos. En el caso de la inflamación de las vías respiratorias inducida por OVA (modelos de ovalbumina), la IL-17A mostró promover la enfermedad, mientras que la IL-17F regulaba negativamente la respuesta alérgica. Sin embargo, otro grupo también encontró que la IL-17F no era esencial para neutrofilia pulmonar inducida por OVA. En general, aunque el debate del papel de la IL-17A e IL-17F en respuesta alérgica a la patogénesis del asma alérgico aún no es concluyente (Song X y Qian Y, 2013).

Finalmente, se ha reportado que la IL-17A se encuentra elevada en el pulmón, el esputo, el lavado bronquioalveolar y el suero de pacientes asmáticos, y los niveles de la IL-17A correlacionan bien con la severidad de la hipersensibilidad de las vías aéreas. Sin embargo, el tipo de asma no ha sido claramente diferenciado (Flores GY y Talamás RP, 2012).

5.5 IL-17 y el cáncer

Durante mucho tiempo se ha discutido sobre la asociación entre la inflamación y las enfermedades crónicas. El siglo XVIII, Rudolph Virchow postuló que la inflamación crónica puede facilitar el desarrollo del cáncer y el crecimiento de los tumores (Flores GY y Talamás RP, 2012). Estudios posteriores informaron que las células Th17 estaban asociadas con la progresión tumoral en el humano. (Yuan Z *et al*, 2012).

Posteriormente otros estudios, sugirieron que la IL-17 ejerce un papel importante en la promoción de la carcinogénesis y el crecimiento tumoral, encontrándose que la IL-17 podía estimular la expresión de metaloproteasas (MMP), conduciendo a la destrucción de la matriz extracelular, proceso necesario para la angiogénesis. También se encontró que esta citocina puede inducir la producción de la IL-6, la cual sobreexpresa genes de sobrevivencia y genes pro-angiogénicos en células tumorales (Flores GY y Talamás RP, 2012).

En otro estudio, se descubrió que la IL-17 derivada de células T CD8⁺ ejerce una función anti-apoptótica directamente sobre células de cáncer de mama, lo cual sugiere la participación de la IL-17 en la promoción del desarrollo de cáncer mediante sus actividades anti-apoptóticas y angiogénicas (Flores GY y Talamás RP, 2012).

Mientras que estudios realizados en cáncer gástrico han revelado que las células T constituyen un componente importante de las células inmunes con el microambiente tumoral. En este estudio también se demostró la existencia de un subconjunto de células T (células T CD8⁺) que producen IL-17 denominadas como células TC17, células que exhiben potentes propiedades proinflamatorias (Yuan Z *et al*, 2012).

En experimentos realizados con modelos murinos, las células TC17 permitieron una mayor protección contra la infección de la gripe y tumores (Yuan Z *et al*, 2012).

Los monocitos/macrófagos y el supresor derivado de las células mieloides (MDSCs), han demostrado ser 2 tipos de células clave contra el tumor. Los monocitos responden a las señales derivadas de tumores tales como CSF-1 e IL-6. Mientras que las MDSCs suprimen la inmunidad antitumoral y por lo tanto promueven la progresión tumoral. En ratones, la IL-17 ha mostrado promover el desarrollo de MDSCs y la actividad antitumoral pero los mecanismos por los cuales ocurre esto y su relevancia para tumores malignos humanos aún no se ha determinado claramente. Mientras que otros estudios señalan que células TC17 inducen a las células tumorales para promover la acumulación de MDSCs y al hacerlo contribuyen a la supresión de la inmunidad antitumoral (Yuan Z *et al*, 2012).

Por otra parte, en muestras de pacientes con cáncer de colon rectal y carcinoma hepatocelular se encontró que había una alta expresión de IL-17A en los casos de mal pronóstico. Sin embargo, pacientes que sufrían de cáncer de ovario se sometieron a un mal pronóstico cuando la infiltración de células productoras de IL -17A y el nivel de IL -17A fueron bajos, lo que sugiere que las contribuciones de IL - 17A a la tumorigénesis dependen del tipo de tumor así como de su estadio. Mientras que en el caso del cáncer de colon en modelos inducidos y espontáneos, la deficiencia de IL-17A resultó en una reducida carga tumoral

intestinal en los ratones y la IL-17F jugó un papel protector en la progresión tumoral, sin embargo el papel exacto de esta última aún queda por abordar (Song X y Qjan Y, 2013).

De manera que mediante estos experimentos, se ha demostrado que la IL-17 desempeña funciones multifactoriales en la inmunidad tumoral, y la función a desempeñar dependerá de: 1) la inmunogenicidad del tumor, 2) el estado inmune del hospedero y 3) la fase de la enfermedad. También se ha postulado que en la fase aguda del tumor, la IL-17 puede ejercer inmunidad antitumoral mediante la estimulación de linfocitos T citotóxicos; sin embargo, cuando la enfermedad alcanza la fase crónica empieza a emerger la actividad angiogénica de la IL-17 (Flores GY y Talamás RP, 2012).

5.6 IL-17 y zinc

En el siglo XVIII se descubrió el zinc, un elemento ubicado en la familia 12 de la tabla periódica, un metal de transición representado con el número atómico 30 y con el símbolo Zn. Este elemento se considera el 24° más abundante de la corteza terrestre y es considerado un elemento de importancia por su amplio poder reductor (Mata GS, 2014).

El zinc es el segundo micronutriente más abundante en el cuerpo humano, encontrándose aproximadamente de 2-3 g en un adulto promedio de 70 kg y se necesita de alrededor de 15 mg de zinc dietético por día (FAO, 2013). El Zinc juega un papel muy importante tanto en el desarrollo humano como en la inmunidad debido a que este elemento traza participa en la síntesis de proteínas involucradas en la defensa ante el estrés oxidativo y en la reparación de ADN (Eguiarte Salomón F, 2013). También participa en la síntesis del DNA y RNA (replicación celular) y es importante para el desarrollo cognoscitivo y el funcionamiento del sistema nervioso central, posee acciones bioquímicas

catalíticas y regulatorias para más de 200 enzimas y está contenido en muchas metaloenzimas que son las que participan en la mayoría de las vías metabólicas (Rivera EJA, 2012). El zinc modifica y estabiliza las membranas celulares debido a su interacción con diversos grupos químicos como: el grupo –SH de las proteínas, con los grupos OH⁻ y COOH⁻ de los ácidos siálicos y con los grupos PO₄³⁻ de los fosfolípidos (Eguiarte Salomón F, 2013).

En la respuesta inmunológica se ha visto que el zinc participa modulando el incremento de la susceptibilidad a infecciones y afectando múltiples aspectos del sistema inmune. Entre sus efectos en el sistema inmunológico destaca su afección en la función de los linfocitos T CD4⁺ y T CD8⁺ actuando sobre su maduración (Sánchez Tapia M, 2013). La deficiencia de este micronutriente disminuye la producción de células Th1 como del INF- γ , IL-2 y TNF- α , inhibiendo su capacidad funcional, no obstante, la población de citocinas Th2 no se ve afectada. Sin embargo, el desbalance de la proporción Th1/Th2, disminuye el porcentaje de las células T citolíticas desencadenando la desestabilización funcional inmunológica del organismo (Eguiarte Salomón F, 2013).

Un trabajo titulado “Efecto de la suplementación con zinc en la producción de IL-17” en el que se buscaba, evaluar en modelos murinos el efecto de la suplementación del zinc como micronutriente en la producción de la IL-17 midiendo su concentración en suero por medio del método de EIA de doble anticuerpo reveló que el consumo de suplementos con zinc favorece la proliferación celular de los linfocitos T en timo, sin producir clonas autorreactivas, además de que repercute de manera significativa en las etapas perinatales demostrando que el consumo de zinc es importante sobre todo en las etapas de desarrollo (Sánchez Tapia M, 2013). Así mismo otro estudio titulado “Efectos del exceso de zinc *in vitro* sobre la producción de interleucina 17” en el que se evaluó el efecto del exceso del zinc en la producción de la IL-17 intracelular en modelos murinos de la cepa BALB/c mediante su detección por citometría de flujo reveló que la subpoblación Th productora de IL-17 se puede lograr por medio de la

estimulación con inductores como la IL-6 y TGF- β (Eguiarte Salomón F, 2013). Ambos estudios descritos anteriormente demuestran la participación del Zinc como inductor en la producción de la IL-17, una citocina pro-inflamatoria relacionada en múltiples enfermedades.

En el año 2012, en Colombia se realizó un estudio estadístico en el que se encontró que hay aproximadamente 2 billones de personas en el mundo con algún déficit del zinc, presentándose principalmente en países en desarrollo (Rivera EJA, 2012).

Otro estudio demostró que la ingesta inadecuada de micronutrientes durante los períodos críticos del crecimiento se ha convertido en un problema de salud, presentándose principalmente en las mujeres embarazadas, lactantes y niños. Sin embargo la deficiencia de micronutrientes, también conocida como desnutrición oculta no solo se presenta en personas mal nutridas, sino también en aquellas personas que presentan un peso corporal adecuado o incluso alto. Este trastorno nutricional incluye la deficiencia de minerales y vitaminas, como el zinc, hierro, calcio, vitamina A y la vitamina D (Costa M *et al*, 2012).

El aporte del zinc a lo largo de la vida cambia de acuerdo a la alimentación consumida, en los lactantes éste aporte se obtiene por medio de la leche materna, mientras que los niños recién destetados lo obtienen de los alimentos como: cereales y frutas, y finalmente en el caso de los adolescentes y adultos se obtiene por medio de alimentos como: el pescado, el huevo, carne, además de los cereales y frutas. En las frutas, vegetales y tubérculos las concentraciones del zinc se encuentran disminuidas mientras que en los cereales refinados, leguminosos y nueces, las concentraciones del zinc se encuentran adecuadas pero se presenta el problema de su biodisponibilidad ya que debido a la gran cantidad de fitatos, sobre todo ácido fítico, fibra y altos niveles de calcio, se disminuye la absorción del zinc, sobre todo a nivel de las secreciones endógenas gastrointestinales, evitando su absorción (Riviera EJA, 2012). Ésta inhibición de la absorción del zinc a nivel

intestinal constituye la causa más probable del déficit marginal de este elemento, además de que muchos grupos de alimentos a pesar de ser una fuente relativamente buena de zinc, contienen inhibidores de su absorción (Paredes GG y Bolaños DR, 2009).

Las causas de la deficiencia del zinc en los seres humanos es amplia, en la deficiencia leve a moderada se suele presentar con: crecimiento y apetito pobre anorexia moderada, incremento de susceptibilidad a la infección por virus como el *Herpes simplex*; a bacterias como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, y *Mycobacterium tuberculosis*; a hongos como *Candida albicans* y a helmintos como *Strongyloides ratti* y *Schistosoma mansoni* (Stanco G, 2010), también se presenta con alteración del gusto y el olfato, anomalías en la visión nocturna (fotofobia), irritabilidad y disminución en la espermatogénesis (masculino) (Rivera EJA, 2012).

En la inmunidad innata, ésta deficiencia provoca daño en las células epidérmicas; ejemplo típico de ello es la acrodermatitis, que afecta el epitelio gastrointestinal y pulmonar e interfiere con el complemento y con los mediadores celulares de la inmunidad innata como son citocinas naturales que permiten la defensa ante diferentes infecciones de tipo polimorfonuclear (Stanco G, 2010). Mientras que a nivel celular, se observan alteraciones en la formación de diferentes células como las células T y B; así mismo, en estudios *in vitro* en ratas, se ha observado un incremento de hasta el 300% en la apoptosis (muerte celular programada) de dichas células; junto con alteraciones de diferentes células embrionarias y hepáticas (Stanco G, 2010).

La deficiencia de minerales como el zinc ha generado preocupación en diversos países por lo que se han creado diversas estrategias para controlar el problema, una de ellas es la suplementación o la fortificación de los alimentos con algún compuesto de zinc adecuadamente absorbible. Actualmente, se reconocen 5 tipos de compuestos de zinc, los que son considerados inocuos y calificados por

la FDA como compuestos GRAS (Generally Recognized As Safe). Estos son: sulfato de Zn, cloruro de Zn, gluconato de Zn, Oxido de Zn y Estearato de Zn. De estos compuestos el sulfato de zinc y el óxido de zinc son los mejores prospectos para los programas de suplemento y fortificación debido a su relativo bajo costo, siendo preferido el óxido de zinc por ser más estable y de menor costo (Paredes GG y Bolaños DR, 2009).

Un claro ejemplo de la importancia de la suplementación con zinc es su uso para fortalecer el sistema inmune y evitar el progreso del estado de portador de VIH al estadio de SIDA; además de que mejora la calidad de vida, previene la transmisión vertical del VIH y mejora la tolerancia al tratamiento antirretroviral. Siendo esta última de mucha importancia ya que el VIH se ha vuelto cada vez más resistente a los retrovirales, de manera que la identificación y la corrección de las deficiencias en micronutrientes pueden tomar una importancia relevante como medida no farmacológica para enfrentar este problema (Rodríguez TE, 2007). En este caso, el zinc es un constituyente de las proteínas del VIH que se requieren para la replicación del virus, por lo que cuando se administra en grandes cantidades contribuye a la replicación del VIH debido a que estimula la actividad de la integrasa, pero si se administra en cantidades adecuadas, el zinc puede inhibir la activación de la proteasa, la cual es esencial para la conservación y la replicación de los viriones (Rodríguez TE, 2007). No obstante, uno de los problemas con este tipo de administraciones es que aún no se han podido establecer los niveles adecuados de zinc en los infectados por VIH, sin embargo, varios estudios en diferentes grupos de población, reportan que el aporte complementario de zinc aumenta los linfocitos T CD4⁺ y CD3, ayuda a aumentar el peso, mejorar el estado clínico, disminuye el riesgo de enfermedades oportunistas, aumenta la respuesta linfocitaria a mitógenos y estabiliza la carga viral. Sin embargo, al igual que con la vitamina A, se requieren mayores estudios para definir la dosis o el requisito adecuado (Rodríguez TE, 2007).

En la actualidad se desconoce a ciencia cierta la cantidad correcta que debe ser utilizada en la suplementación de micronutrientes como el zinc, sin embargo, se ha podido obtener una cantidad aproximada a partir de la historia clínica del paciente y de los diversos estudios realizados. La cantidad administrada de zinc debe ser cuidada con mucha precaución, así como el tiempo en el que se dará el suplemento, ya que diversos estudios revelan que el exceso de zinc puede tener importantes daños en el sistema inmunológico así como en otras funciones del organismo. Estudios realizados en humanos por dosis altas del elemento, demostraron que la administración de 300mg/día, cantidad mayor a la ingesta diaria recomendada, producía alteraciones en la relación LDH/HDL. Mientras que el uso prolongado de suplementos de zinc entre 50 y 300mg/día ha sido asociado a leucopenia, neutropenia, anemia sideroblástica, deficiencia de cobre (afectando la actividad de las enzimas SOD y ceruloplasmina), alteraciones en el metabolismo de las lipoproteínas y una función inmunológica afectada por mencionar unos ejemplos (Eguiarte Salomón F, 2013).

6 PERSPECTIVAS

La realización de este trabajo monográfico de actualización ha permitido comprender mejor la participación de la IL-17 en los distintos procesos infecciosos, inflamatorios y autoinmunes, sin embargo, aún queda camino que recorrer pues la participación de esta citocina en algunas enfermedades sigue siendo desconocida. Por lo que un mayor conocimiento acerca de las funciones biológicas de la IL-17 permitirá en un futuro plantear propuestas que permitan controlar los procesos inflamatorios.

La realización de este trabajo me permitió detectar que existe poca información sobre la cuantificación de la IL-17 y de las condiciones experimentales que se necesitan para su adecuada producción, debido a que son pocas las compañías comerciales que distribuyen los kits y a que estos solo se pueden emplear en algunos modelos.

Estudios realizados previamente en el Laboratorio de Investigación en Inmunología demuestran la participación del zinc como inductor en la producción de IL-17. Por lo que la utilización adecuada de suplementos que contienen zinc, impacta de manera importante en los componentes del sistema inmunológico. Ya que un estudio sobre efecto de la suplementación con zinc en la producción de IL-17 demostró que el consumo de suplementos con zinc favorece la proliferación celular de linfocitos T en timo y repercute de manera significativa en las etapas perinatales favoreciendo la respuesta inmune. Otro estudio realizado también en el laboratorio sobre los efectos del zinc *in vitro* sobre la producción de IL-17, demostró que la polarización de la subpoblación Th productora de IL-17 se puede lograr mediante la estimulación con IL-6 y TGF- β y que la estandarización del método *in vitro* para la producción de IL-17 es indispensable para conocer y entender mejor el papel que desempeña el zinc en su producción.

También por medio de este trabajo, se puede ver la importancia de que haya una regulación en la dosificación de suplementos en tratamiento médicos, como lo es en el caso del zinc, ya que aún no se conoce una concentración estándar de este micronutriente para cada tratamiento así como el tiempo de uso, por lo que se requieren de más estudios que permitan conocer todas las implicaciones que tiene la administración de estos suplementos así como el beneficio que resulta de su consumo.

Finalmente una experiencia personal previa en el Laboratorio de Investigación de Inmunología, me dio una idea más acertada de las implicaciones que tiene el realizar un experimento de esta índole. Por lo que considero que es importante no sólo tener el conocimiento bibliográfico, sino también tener los reactivos, animales y equipos adecuados, así como una excelente técnica para desarrollar de la forma correcta los procesos involucrados en cada etapa para la obtención exitosa de la producción de la IL-17. Otro punto relevante en la realización de este proyecto es la generación de vínculos científicos que permitan el enriquecimiento intelectual, de manera que se pueda aclarar las dudas existentes no sólo de este tema sino también de otros temas de interés social.

7 CONCLUSIONES

- La IL-17 es una citocina pro-inflamatoria producida principalmente por células TCD4⁺, así también como por otras células como: células T $\gamma\delta$, las células NKT y las células T CD8⁺, entre otras.
- La polarización adecuada para la producción de IL-17 requiere de la presencia de IL-6 y TGF- β , los receptores nucleares de ácido retinoico ROR γ t y ROR α y el factor 4 regulador del interferón IRF4, así como también de factores de transcripción esenciales dan lugar a la síntesis y liberación de IL-17.
- La regulación de la IL-17 esta mediada negativamente por las moléculas TRAF4, TRAF3, USP25, A20, C/EBP β , miR23b y la IL-17RD, mientras que la regulación positiva esta mediada por moléculas como NF κ BIZ y la IL17RD. Siendo estas moléculas de regulación las que participan en procesos inflamatorios, por lo que su control es esencial en la susceptibilidad de enfermedades inflamatorias y autoinmunes
- La caracterización y determinación de la IL-17 por diversas técnicas en las distintas patologías permite al investigador conocer más acerca de la expresión o inhibición de esta citocina, permitiendo comprender si esta participa promoviendo o no la enfermedad, y de esta manera permite al investigador dar una idea más acertada de si es necesario inducir su producción o llevar a cabo su inhibición de forma que conlleve a un mejor estado clínico del paciente.

- El conocimiento documental sobre la IL-17, da las bases para la investigación y experimentación de la participación de esta citocina en diferentes enfermedades, principalmente en las enfermedades inflamatorias y autoinmunes. También permite la comprensión de los factores que regulan y participan en su activación permitiendo la utilización de otros modelos y condiciones experimentales que garanticen resultados confiables y reproducibles. Sin embargo para ello aún se requiere de más experimentos.

- El zinc es un inductor de la producción de la IL-17, desempeñando un papel importante en el desarrollo normal del individuo así como también en la inmunidad. Por lo que el uso de suplementos que contengan este elemento traza deben ser estrictamente vigilados ya que en vez de generar un beneficio podrían resultar perjudiciales para la salud.

- Finalmente, el papel benéfico o perjudicial que desempeña la IL-17 en las distintas patologías depende de la inmunidad del individuo, de la enfermedad a tratar y de la regulación de la señalización de esta citocina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmed M y Gaffen SL. IL-17 inhibits adipogenesis in part via C/EBPa, PPARc and Krüppel-like factors. *Cytokine* 2013; 61:898-905.
2. Al Omar S, Flanagan B, Almeahadi M y Christmas Stephen. The effects of IL-17 upon human natural killer cells. *Cytokine* 2013; 62:123-130.
3. Álvarez HLP. Efecto de la Suplementación con vitamina A sobre los niveles de citocinas proinflamatorias y química sanguínea en adultos sanos. *Tesis de Licenciatura*, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia, 2008, pp.1-73.
4. Antonio GR. Plasticidad de los Fenotipos T CD4+ Helper: Modulación de la Respuesta Inmune. *Hematol* 2013; 17(1):37-45.
5. Argani H, Mahdavi R, Ghorbani HA, Razzaghi R, Nikniaz L y Jamal GS. Effects of zinc supplementation on serum zinc and leptin levels, BMI, and body composition in hemodialysis patients. *J Trace Elem Med Biol* 2014; 28:35-38.
6. Arranz CT, Costa MÁ, y Tomat AL. Orígenes fetales de las enfermedades cardiovasculares en la vida adulta por deficiencia de micronutrientes. *Clin Invest Arterioscl* 2012; 24(2):71-81.
7. Babon JJ, Varghese LN y Nicola NA. Inhibition of IL-6 family cytokines by SOCS3. *Semin Immunol* 2014; 26:13-19.

8. Bär E, Whitney PG, Moor K, Reis e Sousa C y LeibundGut S. IL-17 Regulates Systemic Fungal Immunity by Controlling the Functional Competence of NK Cells. *Immunity* 2014; 40:117-127.
9. Barcenilla RH, Prieto MA, Monserrat SJ, Díaz MD, Reyes ME. y Álvarez MSM. Respuesta inmune adaptativa o antígeno específica. *Med* 2009; 10(28):1868-1879.
10. Chunfang G, Ling W y Xiaoxia L. IL-17 family: Cytokines, receptors and signaling. *Cytokine* 2013; 64:477-485.
11. Corral GMN, Ramis FJ y Aulesa MC. Estudio del zinc en plasma seminal mediante métodos colorimétricos. *Rev Int Androl* 2012; 10:57-62.
12. Díaz MD, Barcenilla RM, Borrero CMJ y Álvarez MSM. Funciones efectoras de los linfocitos T. *Med* 2013; 11:1742-1751.
13. Díaz TC. Avances clínicos e inmológicos en la respuesta al tratamiento con terapia deplectora de linfocitos B (Rituximab®) en pacientes con artritis reumatoide. *Tesis Doctoral*, Facultat de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, España, 2013, pp. 1-138.
14. Eguiarte SF. Efectos del exceso de zinc *in vitro* sobre la Producción de IL-17. *Tesis de Licenciatura*, Facultad de Química, Universidad Autónoma de México, México, 2013, pp. 1-83.
15. Fernández ÁS. Linfocitos T Productores de IL-17 en Patologías Autoinmunes Humanas. *Tesis Doctoral*, Facultad de Medicina, Universidad de Córdoba, España, 2011, pp. 1-189.

16. Flores GY y Talamás RP. Interleucina 17, Funciones Biológicas y su Receptor. *Reb* 2012; 31(1):3-9.
17. Fula CMC. Evaluación de la respuesta inmunomoduladora de la “*Echinacea angustifolia*” homeopatizada en cultivo de células mononucleares en sangre periférica humana. *Tesis de Maestría*, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Colombia 2011, pp. 1-50.
18. Gaffen Sarah. Recent advances in the IL-17 cytokine family. *Concurr Opin Immunol* 2011; 23: 613-619.
19. Golden JB, McCormick TS y Ward NL. IL-17 in psoriasis: Implications for therapy and cardiovascular co-morbidities. *Cytokine* 2013; 62:195-201.
20. Gómez E, Duato Lucía, Domínguez BG, Doménech GA, Blanco GMM, Gibello PA, Goyache GJ, Sánchez JM, Rodríguez V, Suárez RM y Cutuki SMT. Compendio de guiones para clases teóricas en la asignatura Inmunología en Veterinaria III: técnicas inmunológicas. *Reduca* 2011; 3 (15): 94-121.
21. Granados SMÁ, Ortiz LMG, Montúfar RI y Menjívar IM. Micronutrientes y diabetes, el caso de los minerales. *Cir Cir* 2014; 82(1):119-125.
22. Hovhannisyan Z, Treatman J, Littman DR y Mayer LL. Characterization of Interleukin-17-Producing Regulatory T Cells in Inflamed Intestinal Mucosa From Patients With Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* 2011; 140:957-965.
23. Kambe T. Methods to Evaluate Zinc Transport into and out of the Secretory and Endosomal- Lysosomal Compartments in DT40 Cells. *Methods Enzymol* 2014; 534:77-92.

24. Kumar P, Natarajan K y Shanmugam N. High glucose driven expression of pro-inflammatory cytokine and chemokine genes in lymphocytes: Molecular mechanisms of IL-17 family gene expression. *Cell Signal* 2014; 26:528-539.
25. Li L y Boussiotis VA. The role of IL-17-producing Foxp3+ CD4+ T cells in inflammatory bowel disease and colon cancer. *Clin Immunol* 2013; 148:246-253.
26. Longhi MS, Liberal R, Holder B, Robson SC, Ma Y, Vergani GM y Vergani D. Inhibition of Interleukin-17 Promotes Differentiation of CD25⁻ Cells Into Stable T Regulatory Cells in Patients With Autoimmune Hepatitis. *Gastroenterology* 2012; 142:1526-1535.
27. Luo X, Barbieri D, Davison N, Yan Y, De Bruijn JD y Yuan H. Zinc in calcium phosphate mediates bone induction: In vitro and in vivo model. *Acta Biomater* 2014; 10:477-485.
28. Madigan M, Martinko J, Dunlap P y Clark D. *Broock, Biología de los microorganismos*, 12 ed, Person Educación, España, 2009.
29. March RGA y Eiros BJ. Citometría de flujo: fundamento, instrumentación y aplicaciones en microbiología clínica. *Rev Electron Biomed / Electron J Biomed* 2012; 3: 45-53.
30. Mata GS. Síntesis de ciclopropilfuranos mediante un proceso multi-componente catalizado por sales de zinc. *Trabajo Fin de Máster*, Universidad de Oviedo, España, 2014, pp. 1-61.
31. Nembrini Ch, J. Marsland B y Kopf M. IL-17-producing T cells in lung immunity and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 123(5):986-994.

32. Pappu R, Rutz S y Ouyang W. Regulation of epithelial immunity by IL-17 family cytokines. *Trends Immunol* 2012; 33(7):343-349.
33. Paredes GG y Bolaños DR. Biodisponibilidad del zinc. *Rev peru pediatr* 2009; 62(2):80-90.
34. Prado CC. Células T efectoras y reguladoras en el lupus eritematoso sistémico efecto de los corticoides sobre la expresión de FoxP3 y la producción de IL-17. *Tesis Doctoral*, Universidad de Oviedo, España, 2012, pp. 1-243.
35. Prieto MA, Barbarroja EJ, Barcenilla RH y Díaz MD. Funciones de los linfocitos B. *Med* 2013; 11(28):1752-1759.
36. Reyes ME, Prieto MA, Díaz MD y Álvarez MSM. Inmunidad innata e inmunidad adaptativa. *Med* 2013; 11(28):1760-1767.
37. Reyna VE, Mejía MJ, Reyna VN, Torres CD, Santos BJ y Aragón ChJ. Concentraciones de interleucina-17 en pacientes preeclámplicas y embarazadas normotensas sanas. *Prog Obstet Ginecol* 2012; 55(1):4-7.
38. Reynolds JM, Angkasekwinai P y Dong Ch. IL-17 family member cytokines: Regulation and function in innate immunity. *Cytokine Growth factor Rev* 2010; 21:413-423.
39. Rincón AH, Yassin NL, Vásquez G y Castaño D. Linfocitos B reguladores en enfermedades humanas y modelos murinos de autoinmunidad. *Inmunol* 2013; 32(4):129–138.
40. Rivera EJA. Zinc y Desnutrición. *Rev Gastrohnutp* 2012; 14(2):59-61.

41. Rodríguez TE. Impacto de la deficiencia de micronutrientes en pacientes con VIH/sida. *Rev infectio* 2007; 11(2):78-86.
42. Romero SC, De AJ, Londoño J, Mora A, Bello JM y Valle OR. Nuevo Paradigma en Espondiloartritis: Linfocitos Th-17. *Rev Colomb Reumatol* 2010; 17(1):48-57.
43. Sánchez TM. Efecto de la Suplementación con Zinc en la Producción de IL-17. *Tesis de Licenciatura*, Facultad de Química, Universidad Autónoma de México, México, 2013, pp. 1-54.
44. Shibui A, Shimura E, Nambu A, Yamaguchi S, Leonard WJ, Okumura K, Sugano S, Sudo K y Nakae S. Th17 cell-derived IL-17 is dispensable for B cell antibody production. *Cytokine* 2012; 59:108-114.
45. Smolianov V, Dehmel T, Kieseier BC, Hemmer B, Hartung HP y Hofstetter HH. Ex vivo activation of naturally occurring IL-17-producing T cells does not require IL-6. *Cytokine* 2012; 58:231-237.
46. Song X y Qian Y. The activation and regulation of IL-17 receptor mediated signaling. *Cytokine* 2013; 62:175-182.
47. Song X y Qian Y. IL-17 family cytokines mediated signaling in the pathogenesis of inflammatory diseases. *Cell Signal* 2013; 25:2335-2347.
48. Stanco G. Zinc en la infancia: Rompiendo paradigmas. *Rev Gastrohnp* 2010; 12(1):S10-S13.
49. Tabora NA, Hernández JC, Montoya CJ y Rugeles MT. Las células natural killer y su papel en la respuesta inmunitaria durante la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo-1. *Inmunol* 2014; 33(1):11-20.

50. Tamay de Dios L, Ibarra C y Velasquillo C. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Medigraphic* 2013; 2(2): 70-78.
51. Usui F, Kimura H, Ohshiro T, Tatsumi K, Kawashima A, Nishiyama A, Iwakura Y, Ishibashi S y Takahashi M. Interleukin-17 deficiency reduced vascular inflammation and development of atherosclerosis in Western diet-induced apoE-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 420:72-77.
52. Van den Berg WB y McInnes IB. Th17 cells and IL-17A: Focus on immunopathogenesis and immunotherapeutics. *Semin Arthritis and Rheum* 2013; 43:158-170.
53. Walsh KP y Mills KHG. Dendritic cells and other innate determinants of T helper cell polarisation. *Trends Immunol* 2013; 34:521-530.
54. Yomogida K, Chou YK y Cong QCh. Superantigens induce IL-17 production from polarized Th1 clones. *Cytokine* 2013; 63:6-9.
55. Yu ChH, Man HP, Jun JL y Sung LY. Alanyl-glutamine resolves lipopolysaccharide-induced lung injury in mice by modulating the polarization of regulatory T cells and T helper 17 cells. *J Nutr Biochem* 2013; 24:1555-1563.
56. Yuan Z, Lui SP, Yong LZ, Yun S, Xu HM, Weisan Ch y col. CD8-T Cells That Produce Interleukin-17 Regulate Myeloid-Derived Suppressor Cells and Are Associated With Survival Time of Patients With Gastric Cancer. *Gastroenterology* 2012;143:951–962.

57. Xu S y Cao XT. Interleukin-17 and its expanding biological functions. *Cell & Mol Immunol* 2010; 7: 164–174.

58. Xu Y, Xu X, Gao X, Chen H y Geng L. Shikonin suppresses IL-17-induced VEGF expression via blockage of JAK2/STAT3 pathway. *Int Immunopharmacol* 2014; 19:327-333.

Sitios en Línea:

59. Becton, Dickinson y Compañía, *Kit de Fenotipificación para ratón Th1/Th2/Th17* [en línea]. EUA, 2011, [Fecha de consulta: Junio del 2014]. Documento disponible con el distribuidor autorizado y también en línea en: <http://wwwbdbiosciences.com/external_files/pm/doc/tds/mouse/live/web_enabled/560758.pdf>

60. FAO, *Nutrición humana en el mundo en desarrollo* [en línea]. Textinfo. EUA, Departamento de Agricultura, Octubre 2002 [Fecha de consulta: 24 Abril del 2014]. Capítulo 20, Carencia de Zinc. Disponible en: <<http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0o.htm>>

61. Thomson Reuters, *Reference Manager* [en línea]. Versión 12.0.3, EUA, 2010, [Fecha de consulta: Marzo - Julio del 2014]. Base de datos disponible con el distribuidor autorizado y también en línea en: <<http://www.refman.com>>