

## ANTECEDENTES

### Vitamina E

La vitamina E fue descubierta en 1920 por Herbert Evans y Katherine Bishop. Se le nombró tocoferol (del griego *tokos*: nacimiento y *phero*: producir), después de observar que ratones hembras que consumían alimento con manteca de cerdo rancia abortaban, hasta que consumían alimento adicionado con aceite de germen de trigo. De este último, la vitamina E fue aislada por primera vez en 1936 por Evans y colaboradores (Machlin, 1991; Wolf y col., 1998).

Son ocho los miembros de la familia de la vitamina E:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -tocoferoles y  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -tocotrienos, siendo, biológicamente, el  $\alpha$ -tocoferol el más activo y abundante de esta familia (Meydani y col., 2005; Suchankova y col., 2006). Todos estos miembros comparten en su estructura un anillo cromanol (figura 1), los tocoferoles poseen una cadena lateral fitol y en el caso de los tocotrienos, esta cadena contiene dobles enlaces en posiciones 3', 7' y 11' (Machlin, 1991).

### Propiedad Antioxidante

La vitamina E es considerada la primera línea de defensa contra la peroxidación lipídica debido a que es el mejor antioxidante liposoluble en todas las membranas celulares (Meydani y col., 2005; De la Fuente y col., 2000). Protege a los tejidos de los daños oxidativos al proporcionar su átomo de hidrógeno fenólico a los radicales peroxilos. La concentración de la vitamina E es 10 veces mayor en las células involucradas en el sistema inmunológico que en los

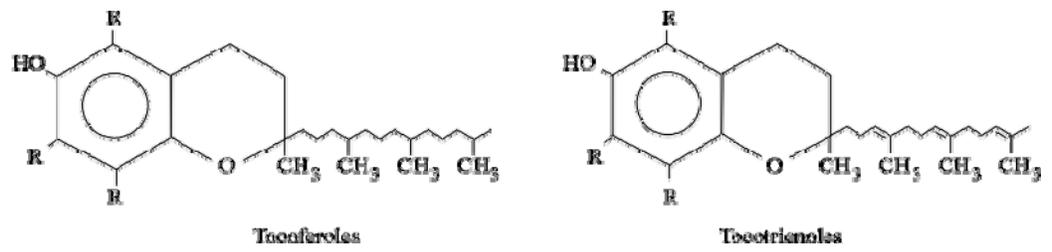


Figura 1. Estructura molecular de los Tocoferoles y Tocotrienoles

eritrocitos (Lee y col., 2000). Esto probablemente debido al alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados susceptibles a la peroxidación en las células inmunológicas por la exposición a altas concentraciones de radicales libres (Hughes, 2000).

Los radicales libres son moléculas altamente inestables y reactivas debido a que poseen un electrón desapareado en su órbita externa (Chattopadhyay y col., 2006). Son producto de varios procesos: metabolismo celular normal, metabolismo anaeróbico, contaminantes, exposición a radiaciones. También se producen por algunas respuestas inmunes, ya que son utilizados en la eliminación de patógenos tanto intracelulares como extracelulares. Pero, aún cuando son empleados en la erradicación de microorganismos invasores, los radicales libres, como lo son: anión superóxido, radical hidroxilo, peróxido de hidrógeno y singlete de oxígeno, provocan un estrés oxidativo. Éste afecta principalmente a los linfocitos T, los cuales tienen una alta cantidad de ácidos grasos de cadena poliinsaturada, susceptibles a la peroxidación (Tu y col., 1995; Hughes, 2000; Lee y col., 2000, Pinelli, 2003). Probablemente esta es la razón por la cual los linfocitos T poseen la mayor cantidad de vitamina E en sus membranas en comparación con otras células.

## **Propiedades Inmunomoduladoras**

No solo las membranas celulares están expuestas a recibir daños por parte de los radicales libres, sino también el DNA, las proteínas, la transducción de señales así como la expresión de genes. Al ser dañados, ocasionan trastornos en la estructura, señalización y metabolismo celular normal (Tu y col., 1995; McArthur, 2000). Por todo esto el sistema inmunitario requiere de antioxidantes como lo es la vitamina E.

El estudio de los efectos inmunomodulares de la vitamina E ha sido enfocado principalmente en humanos de la tercera edad, así como en modelos murinos del mismo tipo. Meydani y colaboradores (1986), han realizado varios estudios del impacto de la suplementación en dosis altas con vitamina E sobre el sistema inmunológico. Estos investigadores han observado que en ratas ancianas, suplementadas con 500 mg/kg durante 6 semanas, se logra un incremento en la proliferación de linfocitos tras ser estimulados con Concanavalina A (ConA) y lipopolisacárido (LPS). También han visto un aumento en la producción de IL-2, contrario a la Prostaglandina E<sub>2</sub>, factor inhibitorio de la proliferación de linfocitos, que se vio disminuido tras la suplementación con vitamina E. En otro estudio realizado por este grupo, pero con personas mayores de 60 años, se obtuvieron los mismos resultados, suplementando con 800mg diarios durante 3 días (Meydani y col., 1990). También, ese mismo grupo de investigación realizó una segunda suplementación en personas mayores de 65 años con 3 diferentes dosis: 60, 200, 800 mg por día, durante 253 días. Observaron un incremento en la HR (Hipersensibilidad Retardada) y en los títulos de anticuerpos contra hepatitis B y tétano con las dosis de 200 y 800 mg (Meydani y col., 1997).

En 1996, Devaraj en colaboración con Jialal reportaron la capacidad de la vitamina E de disminuir la liberación de radicales libres y la reducción significativa en la oxidación de lípidos por los monocitos. Li-Weber y colaboradores (2002), demostraron la supresión a nivel transcripcional de la IL-4, mostrando el uso potencial de la vitamina E en combinación con medicamentos para la prevención de enfermedades alérgicas. En el 2000, Han y colaboradores encontraron que en ratones ancianos infectados con el virus de la influenza, después de suplementarlos con vitamina E por ocho semanas, se incrementó la producción de citocinas tipo Th1. Hernández y col., (2007) encontraron que la suplementación *in vitro* con vitamina E de personas con tuberculosis aumentó la proliferación de células mononucleares antígeno-específicas. Por lo anterior, los efectos de la vitamina E sobre el sistema inmunitario se observan principalmente en los Linfocitos T, y es por eso que en este trabajo nos enfocaremos a analizar la posible modulación de esta vitamina en las citocinas características de los linfocitos T.

## **Linfocitos T**

Los linfocitos T son células cuyas acciones están involucradas en cada una de las respuestas inmunológicas que se llevan a cabo contra antígenos proteicos. La activación de estas células se realiza mediante la presentación de los antígenos por medio del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). Existen dos clasificaciones de linfocitos T: linfocitos T CD4<sup>+</sup>, también llamados linfocitos T cooperadores (Th), que son restringidos al MHC clase II y linfocitos T CD8<sup>+</sup> o linfocitos T citotóxicos (T<sub>c</sub>), restringidos al MHC tipo I. A su vez, los linfocitos Th se clasifican en dos subtipos: linfocitos Th1 y linfocitos Th2. Esta clasificación se basa en el perfil de citocinas, las cuales regulan el desarrollo y

activación de estas células al igual que orquestan la homeostasis del sistema inmunológico (Abbas, 2004).

Las citocinas son producidas por varios tipos celulares y funcionan como reguladores de la respuesta inmunitaria. Actúan como mediadores de la inflamación, transmisores químicos de información entre las células, así como factores de crecimiento. Modulan y coordinan una diversidad de funciones del sistema inmunológico, como lo son: la activación, proliferación, diferenciación y apoptosis de las células inmunitarias. Estas funciones son predominantemente reguladas por las citocinas de los linfocitos T, importantes tanto para la inmunidad celular como para la humoral (Abdalla y cols., 2003; Abbas, 2004).

Como se mencionó anteriormente, los linfocitos T cooperadores se subdividen en Th1 y Th2, de acuerdo al panel de citocinas que producen. Las más características para los linfocitos Th1 son: IL-2, IFN- $\gamma$  y TNF- $\beta$ . Para los linfocitos Th2 son IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 (Groot y col., 2005; Sia, 2005; Abbas, 2004; Matsui y col., 2003; Romagnani, 2006). Así, cada subtipo de linfocitos lleva a cabo la producción de su perfil de citocinas efectoras característico, a la vez que cada subpoblación es inhibida como resultado de la producción de citocinas por la contraparte (Muraille y col. 1997; Sia, 2005). Las características de las citocinas antes mencionadas se describen en la Tabla I.

Estos linfocitos T son los “brazos” efectores del sistema inmune que responde de manera más rápida y eficiente contra patógenos con los que se han encontrado previamente y reflejan la preexistencia de poblaciones de clonas de linfocitos antígeno-específicos. La activación de estas células, tanto de las Th1 como de las Th2, se ve influenciada por varios factores, como lo son las células presentadoras de antígeno, citocinas pro-Th1(IL-2, IL-12 e IFN- $\gamma$ ) y pro-Th2 (IL-4), la fuerza de la primera señal y la expresión de moléculas co-

**Tabla I. Citocinas Th1/Th2**

<b>Citocina</b>	<b>Fuente celular</b>	<b>Efectos</b>
<b>IL-2</b>	Linfocitos T CD4+ y menor grado CD8+	Proliferación de células antígeno-específicos Apoptosis de Linfocitos T activados Proliferación de linfocitos NK Proliferación y síntesis de anticuerpos por Linfocitos B
<b>IL-4</b>	Linfocitos T CD4+ Th2	Cambio de isotipo de la cadena pesada de Ig a IgE en linfocito B Factor de de crecimiento autocrino para linfocitos Th2 diferenciados Antagónico de los efectos activadores de IFN- $\gamma$
<b>IL-5</b>	Linfocitos T CD4+ Th2	Activación de eosinófilos Estimula la proliferación de linfocitos B y síntesis de anticuerpos IgA
<b>IL-10</b>	Macrófagos activados, Linfocitos Th2	Inhibe síntesis de IFN- $\gamma$ Inhibe expresión de coestimuladores y moléculas de MHCII en macrófagos y células dendríticas
<b>IL-13</b>	Linfocitos T CD4+ Th2	Inhibición de macrófagos Antagonista de IFN- $\gamma$ Cambio de isotipo de la cadena pesada de Inmunoglobulina a IgE en linfocito B
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Linfocitos T CD4+ Th1, CD8+ y NK*	Activación de macrófagos, incrementando acción microbicida Estimula expresión de moléculas de CPH I y II Estimula expresión de moléculas coestimuladoras de las CPA** Inhibe la proliferación de linfocitos Th2
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Linfocitos T, NK*, Macrófagos activados por LPS***	Pirógeno endógeno Estimula secreción de IL-1 e IL-6 Activa el sistema de coagulación

\* Natural killer, \*\* Célula presentadora de antígeno, \*\*\* Lipopolisacárido

Abbas, 2004

estimuladoras. Cada uno de los linfocitos vírgenes tiene el potencial de expresar cualquiera de los genes de citocinas de tipo Th1 o Th2 en la misma proporción, solo dependerá del estímulo que el linfocito T reciba y mantienen su fenotipo a través del tiempo (Singh y col., 2003; Lantelme y col., 2001; Abbas, 2004).

La amplia variedad de citocinas le permiten al linfocito T cooperador llevar a cabo distintas funciones efectoras, teniendo un papel central en el control de la respuesta inmune, determinando la especificidad y el tipo de respuesta que se montará frente a un antígeno. Así, los linfocitos Th1 están involucrados en la inducción de la respuesta inmune mediada por células, inmunidad celular, o la defensa mediada por fagocitosis, dirigida a la protección contra patógenos intracelulares. Los linfocitos Th2 evocan fuertes respuestas inmunes mediadas por anticuerpos, promoviendo el cambio de isotipo de los anticuerpos a IgE, los cuales protegen contra patógenos extracelulares, particularmente contra parásitos (Muraille, 1997; Lantelme, 2001; Romagnani, 2006). Pero, aún con tener acciones de protección en el organismo, los linfocitos Th1 y Th2 pueden tener respuestas devastadoras cuando no existe un balance adecuado de sus citocinas. Si esto ocurre en el caso de los linfocitos Th1, se puede presentar artritis reumatoide, diabetes, inflamación crónica o procesos autoinmunes como en la enfermedad de Chron. Cuando hay desbalance en las citocinas Th2 surgen los procesos alérgicos y asma (Matsui y col., 2003; Groot y col., 2005; Rogmanani, 2006).

Se requieren estudios donde se lleve a acabo el análisis de los efectos de la suplementación con vitamina E sobre la producción de citocinas tipo Th1 y Th2 en linfocitos de personas jóvenes, ya que la mayoría de los estudios se han enfocado en personas mayores de 60 años, así como en modelos murinos, y con esto poder comprender las vías inmunológicas y patológicas involucradas

en reacciones inflamatorias, enfermedades autoinmunes y rechazo de transplantes.

La expresión de los genes que codifican para las citocinas características de los linfocitos Th1, IL-2 e IFN- $\gamma$ , y de los Th2, IL-4 e IL-10, puede ser cuantificada utilizando PCR en tiempo real. Ésta técnica es una herramienta poderosa para la cuantificación de transcritos mediante la detección y cuantificación de una molécula fluorescente (SYBR Green), la cual se une a la doble cadena de DNA y fluoresce cuando es excitada por una fuente de luz. Las ventajas de este método sobre el convencional es que la amplificación puede ser monitoreada en tiempo real, la sensibilidad y reproducibilidad es mayor y más rápida. (Bustin, 2005; Kubista y col., 2006)