

Participación de la familia de la IL-36 en las enfermedades metabólicas

Figueroa-Vega Nicté Guadalupe¹, Martínez de la Cruz Mayra Ivette², Torres Díaz Ruth Elena³, Aguilera Guevara Adriana Anabel⁴, Felipe Hernández Fernanda Ángel⁵, Ávalos Ayala Ximena⁶

¹Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la Salud, Universidad de Guanajuato Campus León

^{2,3,4,5}Departamento de Medicina y Nutrición, División de Ciencias de la Salud, Universidad de Guanajuato Campus León

⁶División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato Campus Guanajuato

ng.figueroa@ugto.mx¹, mi.martinezdelacruz@ugto.mx², re.torresdiaz@ugto.mx³, aa.aguileraquevara@ugto.mx⁴,
fa.felipehernandez@ugto.mx⁵, x.avalosayala@ugto.mx⁶

Resumen

La interleucina 36 (IL-36) es una proteína que forma parte del sistema inmune, pero es producida por una amplia variedad de células entre las que destacan adipocitos, músculo esquelético, macrófagos y linfocitos T. La producción de la IL-36 se regula de manera compleja y depende de varios factores, como la expresión de genes específicos, la activación de ciertas vías de señalización y la presencia de estímulos inflamatorios.

La familia de la IL-36 consiste de tres proteínas agonistas IL-36 α , IL-3 β e IL-36 γ ; un antagonista conocido como IL-36Ra; un receptor celular IL-36R y una proteína accesoria IL-1RAcP. Este grupo de citocinas tienen implicaciones considerables en el funcionamiento del sistema inmunológico y la inflamación. Existe evidencia que sugiere que la IL-36 podría estar involucrada en el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y de resistencia a la insulina, una condición crónica caracterizada por altos niveles de glucosa en la sangre. Una de las implicaciones más relevantes que tiene la IL-36 es la inducción de inflamación, pues se ha demostrado que esta proteína es capaz de inducir su propia expresión y liberación por adipocitos y macrófagos, además, la sobreexpresión de esta proteína se ha asociado con la obesidad y los altos niveles de grasa corporal.

A pesar de que la mayoría de las investigaciones realizadas hasta la fecha relacionan la expresión de IL-36 con la progresión de enfermedades metabólicas e inflamatorias, recientemente se ha encontrado evidencia que supone un rol de protección, pues en un ensayo llevado a cabo en ratones que no expresaban IL-36Ra, el antagonista de la familia de IL-36, los roedores desarrollaban menor ganancia de peso inducida por dieta, hiperglicemia y resistencia a la insulina.

A través de este Proyecto se pretende esclarecer el papel de cada una de las moléculas en una cohorte de personas eutróficas, y aquellas que padecen obesidad, diabetes e hipertensión. Mediante ELISAs se cuantificarán en suero las concentraciones de IL-36 α , IL-3 β e IL-36 γ e IL-36Ra para conocer su valor predictivo y diagnóstico de las enfermedades metabólicas.

Palabras clave: interleucina 36; enfermedades metabólicas; DM2; obesidad; hipertensión; inflamación crónica de bajo grado

Introducción

La obesidad, DM2 e hipertensión arterial son enfermedades crónicas que afectan a un gran porcentaje de la población mexicana, con tasas de morbilidad y mortalidad elevadas. Una de las complicaciones propias de estas enfermedades que afectan a los individuos que las padecen es la inflamación crónica, un proceso en el que participan muchas células y moléculas de diferentes tipos de tejido que predisponen a los individuos a deficiencias inmunológicas y metabólicas. Por ello es imperativo estudiar los mecanismos moleculares y celulares que participan en las alteraciones propias de la obesidad, DM2 y la hipertensión arterial que conllevan a complicaciones más graves para de esta manera con futuras investigaciones ser capaces de proponer nuevos biomarcadores de diagnóstico, pronóstico y tratamiento para estas enfermedades.

Los fenómenos inflamatorios de patologías como la obesidad, DM2 o hipertensión arterial implican mucho en el desarrollo de estas enfermedades y en el deterioro de la salud de quienes las padecen. La IL-36, al ser miembro de la súper familia de citocinas de IL-1, comparte ciertas características morfológicas y funcionales con la IL-1y además, está involucrada en las respuestas inflamatorias de diferentes tejidos en otras enfermedades inflamatorias. Por ello, figura como una de las moléculas potenciales para dilucidar nuevos

mecanismos de la respuesta inflamatoria relacionados con enfermedades metabólicas, ya que puede tener un comportamiento similar al de los miembros de la familia de IL-1, contribuyendo al desarrollo, establecimiento y cronicidad de estas. Dilucidar la participación de IL-36 en enfermedades metabólicas con alteraciones inflamatorias puede establecer las bases para la búsqueda de nuevos biomarcadores de diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las enfermedades anteriormente mencionadas.

Por otra parte, la IL-36 parece estar implicada en el desarrollo de inflamación crónica en el tejido adiposo, una de las principales características de la DM2. Los pacientes con DM2 presentan niveles séricos de los agonistas de IL-36 superiores a los de sujetos sanos, esto es un claro indicador de su implicación en el desarrollo y progresión de la inflamación; sin embargo, en los pacientes que se someten a tratamientos en los que se busca disminuir el peso corporal y eliminarla grasa generada por el tejido adiposo se ha logrado disminuir la concentración de IL-36 sérica y la expresión del gen IL36G. Estos hallazgos establecen el enlace entre los mecanismos proinflamatorios mediados por la IL-36 y el desarrollo de DM2, obesidad y las comorbilidades asociadas a estas.^[1]

En pacientes con hipertensión arterial se han encontrado altos niveles de citocinas proinflamatorias que están relacionadas con la severidad de la enfermedad y la supervivencia de los pacientes, como la IL-1 β , IL-6, IL-17, IL-8, TGF β y TNF α que han sido asociados con valores de presión sanguínea altos y daño en órganos específicos.^[2]

En obesidad poco se sabe sobre las implicaciones de esta molécula, mientras que en las patologías anteriormente mencionadas la IL-36 se relaciona con el ambiente proinflamatorio, en la obesidad esta parece tener algunos efectos benéficos, pues en ratones la IL-36 altera el microbioma intestinal y puede proteger contra la obesidad y la disfunción metabólica.^[3]

Es por ello que nos hemos planteado el objetivo de dilucidar si las concentraciones de la familia de la IL-36 son un mejor predictivo de enfermedades metabólicas. Obtener resultados que sirvan de base para, en etapas posteriores, examinar otros elementos de estas vías y de componentes aferentes de estos mecanismos de inflamación. Colectar datos antropométricos, signos vitales, antecedentes personales y familiares, niveles de glucosa en ayuno, HbA1c, perfil de lípidos.

Materiales y métodos

Participantes

Estudio clínico, comparativo, transversal, con 127 voluntarios adultos de ambos sexos, de 30 a 55 años, sin otras enfermedades crónico-degenerativas, neoplásicas o infecciosas. Los participantes se clasificaron en eutróficos (sanos): adultos sanos de peso normal (n=40); adultos con DM2 (n=32) de evolución menor a 5 años y buen control metabólico, con HbA1c <7.0%; adultos con obesidad y control metabólico (n=17); adultos con hipertensión sin datos de nefropatía (n=36). Se obtuvieron antecedentes personales, familiares, patología concurrente y se midió la tensión arterial y somatometría.

Criterios de inclusión

- Grupo de sujetos eutróficos: Los participantes pueden ser de ambos sexos, edad entre 30 y 55 años, que no presenten ninguna otra enfermedad crónica, infecciosa o neoplásica, sin consumo de suplemento o remedios herbolarios, sin medicación; excepto analgésicos e inhibidores de la bomba de protones, sin fumar, sin beber alcohol o beber esporádicamente 2 copas por semana, IMC especializado.
- Grupo de pacientes con obesidad grado I: Los participantes pueden ser de ambos sexos, edad de entre 30 y 55 años, sin presentar ninguna otra enfermedad crónica, infecciosa o neoplásica, sin consumo de suplementos o remedios herbolarios, sin consumo de medicamentos excepto de analgésicos e inhibidores de la bomba de protones, sin fumar, sin beber alcohol o beber esporádicamente <2 copas por semana, IMC \geq 30 a 34.9 Kg/m², sin plan de alimentación especializado, con presencia o ausencia de dislipidemia. Los pacientes no deben presentar complicaciones adicionales como diabetes, síndrome metabólico o hipertensión arterial.
- Grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2: Los participantes pueden ser de ambos sexos, edad entre 30 y 55 años, evolución de la DM2 de 5 años desde el diagnóstico, sin ninguna otra enfermedad crónica, infecciosa o neoplásica, sin consumo de suplementos o remedios herbolarios, tratamiento farmacológico con metformina, consumo de analgésicos e inhibidores de la bomba de protones, sin fumar, sin beber alcohol o beber esporádicamente <2 copas por semana, IMC \geq 18.7 a 34.9 Kg/m²

, sin presencia de complicaciones de la DM2, con presencia o ausencia de dislipidemias. Los pacientes deben ser metabólicamente sanos, sin presentar complicaciones.

- Grupo de pacientes con hipertensión arterial: Los participantes pueden ser de ambos sexos, edad de 30 a 55 años, presencia de hipertensión esencial, sin ninguna otra enfermedad crónica, infecciosa o neoplásica, sin consumo de suplementos o remedios herbolarios, tratamiento farmacológico (un fármaco) con cualquier antihipertensivo excepto enaladil o hidroclorotiazida, sin tratamiento de la dislipidemia, puede presentar consumo de analgésicos e inhibidores de la bomba de protones, sin fumar, sin beber alcohol o beber esporádicamente <2 copas por semana, IMC \geq 18.7 a 24.8 Kg/m², sin presencia de complicaciones, con presencia o ausencia de dislipidemias. Los pacientes deben ser metabólicamente sanos, es decir, sin presentar complicaciones adicionales como diabetes u obesidad.

Obtención de muestras

A partir de una muestra de sangre de 10 mL, se cuantificaron los siguientes parámetros bioquímicos: glucosa, HbA1c, perfil lipídico, creatinina, albúmina, creatinina horaria y el índice de albúmina/creatinina.

Cuantificación de IL-36

Para la cuantificación de la concentración de IL-36 se realizó un ELISA en una microplaca de 96 pocillos, diluyendo el anticuerpo de captura en PBS sin proteína portadora y se cubrió cada pocillo con 100 μ L de la solución. Incube la placa toda la noche a temperatura ambiente. Lave tres veces con 400 μ L de Buffer de Lavado y bloquee los pocillos con 300 μ L de Diluyente de Reactivos durante al menos 1 hora a temperatura ambiente. Añada 100 μ L de muestra o estándar diluido por pocillo, incube 2 horas y lave nuevamente. Agregue 100 μ L de anticuerpo de detección diluido, incube 2 horas y lave otra vez. Añada 100 μ L de Streptavidina-HRP, incube 20 minutos evitando la luz directa y lave. Agregue 100 μ L de la Solución de Sustrato, incube 20 minutos evitando la luz directa, y detenga la reacción con 50 μ L de Solución Stop. Finalmente, mida la densidad óptica a 450 nm, corrigiendo a 540 nm o 570 nm si es posible.

Resultados

Tabla 1. Características clínicas de los participantes

Variable	Eutróficos Media \pm SD (n = 40)	Obesos Media \pm SD (n = 20)	DM2 Media \pm SD (n = 31)	HTA Media \pm SD (n = 38)	F	P value
Edad (años)	42.45 \pm 7.41 \blacklozenge	38.24 \pm 4.94 ^{○○○+}	46.44 \pm 7.17	43.71 \pm 5.12	6.32	0.0005
Peso (Kg)	62.12 \pm 10.59 ^{†††††*****}	82.64 \pm 8.64 [°]	70.70 \pm 12.62	75.35 \pm 14.39	13.95	<0.0001
Talla (m)	1.59 \pm 0.07	1.60 \pm 0.08	1.56 \pm 0.08	1.59 \pm 0.10	1.178	0.3211
IMC (Kg/m ²)	24.57 \pm 4.12 ^{†††††*****}	32.37 \pm 1.85 [°]	28.94 \pm 3.71	29.67 \pm 4.77	19.07	<0.0001
CCintura (cm)	83.15 \pm 9.48 ^{†††††*****}	100.76 \pm 6.93	93.16 \pm 10.79	95.47 \pm 11.20	16.15	<0.0001
CCadera (cm)	97.41 \pm 8.56 ^{†††††*****}	111.46 \pm 7.20 [°]	104.22 \pm 7.68	105.81 \pm 9.62	12.74	<0.0001
Ccuello (cm)	34.34 \pm 2.79 ^{***}	—	36.24 \pm 2.96	37.51 \pm 3.94	7.111	0.0014
TAS (mmHg)	108.80 \pm 10.48 ^{*****}	111.18 \pm 6.9 ^{****}	112.88 \pm 8.13 ^{****}	134.03 \pm 11.31	51.14	<0.0001
TAD (mmHg)	71.78 \pm 6.55 ^{*****}	76.71 \pm 5.19 ^{****}	75.16 \pm 5.61 ^{****}	89.21 \pm 9.80	40.65	<0.0001
% Grasa (%)	24.82 \pm 7.59 ^{†††††*****}	36.74 \pm 9.96	38.15 \pm 4.78	34.30 \pm 7.73	19.21	<0.0001
% Músculo (%)	42.28 \pm 6.54 [*]	—	41.42 \pm 7.29 [*]	46.82 \pm 8.82	4.955	0.0090
Glucosa (mg/dL)	85.30 \pm 7.67 ^{****}	87.57 \pm 8.26 ^{○○○○}	161.03 \pm 88.31 ^{****}	87.05 \pm 7.63	25.06	<0.0001

Hb1Ac (%)	5.55 ± 0.56	—	7.30 ± 1.98	—	—	—
Col (mg/dL)	172.30 ± 26.94**	175.03 ± 26.18	195.41 ± 41.08	194.47 ± 27.22	5.174	0.0021
HDL (mg/dL)	46.38 ± 10.08 ††	57.52 ± 7.61 ○○○○++++	43.28 ± 11.61	43.63 ± 9.52	8.915	<0.0001
no-HDL (mg/dL)	125.93 ± 25.37****	117.51 ± 24.90 [○] ○++	152.13 ± 43.20	150.84 ± 25.14	9.003	<0.0001
LDL (mg/dL)	110.14 ± 21.25†*	88.42 ± 20.67 [○] ○++++	117.18 ± 33.09	125.57 ± 23.98	8.807	<0.0001
Triglicéridos (mg/dL)	78.95 ± 35.15 †****	145.47 ± 42.25	174.75 ± 126.01*	126.37 ± 53.51 *	10.39	<0.0001
VLDL (mg/dL)	15.79 ± 7.03†****	29.09 ± 8.45	34.95 ± 25.20*	25.27 ± 10.70*	10.39	<0.0001
Creatinina (mg/dL)	0.88 ± 0.19	0.88 ± 0.17	0.82 ± 0.13	0.84 ± 0.18	1.040	0.3776
Microalbuminuria	15.12 ± 8.10	—	19.93 ± 10.28	—	21.11	0.0002

(↑) Eutroficos v obesos, (◆) Eutroficos vs DM2, (●) Eutroficos vs HTA, (○) Obesos vs DM2, (+) Obesos vs HTA, (*) DM2 vs HTA

Como muestran las Figuras (1a, 1b y 1c) los niveles séricos de proteínas agonistas de la familia IL-36 son considerablemente mayores en aquellos pacientes con obesidad, con DM2, y con hipertensión comparados con los sujetos sanos; mientras que los niveles séricos del antagonista son más bajos en todos los pacientes con enfermedades metabólicas en comparación con los sujetos control.

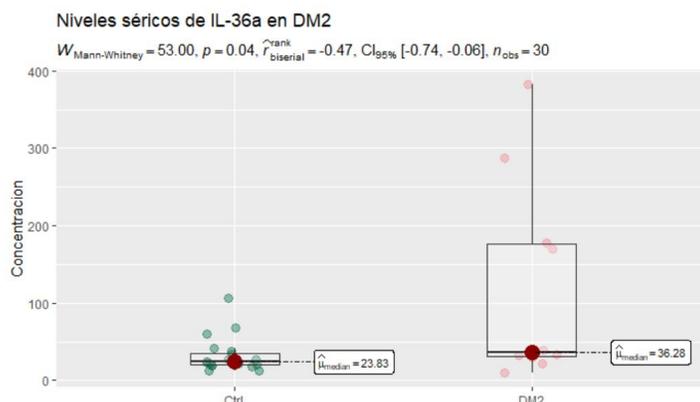


Figura 1a. Niveles séricos de IL-36 alfa.

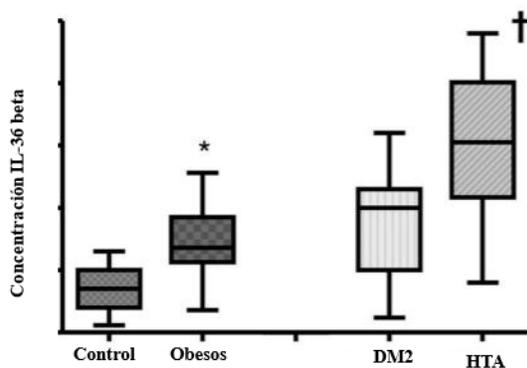


Figura 1b. Niveles séricos de IL-36 beta

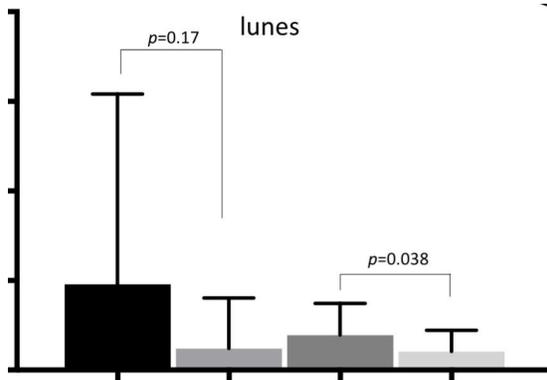


Figura 1c. Niveles séricos de IL-6a.

Discusión

La familia de citocinas IL-36 desempeña un papel crucial en la regulación de la inflamación y tiene implicaciones significativas en el desarrollo de enfermedades inflamatorias. Los resultados obtenidos hasta el momento sugieren que la IL-36 parece estar implicada en el desarrollo de la inflamación crónica de bajo grado que acompaña a las enfermedades metabólicas.

Estos hallazgos pudieran establecer la conexión entre los mecanismos proinflamatorios mediados por la IL-36 y el desarrollo de las enfermedades metabólicas. Estudios adicionales enfocados en los tratamientos de cada patología podrían ayudar a esclarecer el papel que juega cada una de las moléculas y cómo estas se regulan al disminuir la inflamación y/o factores asociados a las diferentes condiciones.

Conclusiones

En conclusión, la interleucina 36 (IL-36) emerge como un actor crucial en la regulación de la inflamación y el metabolismo, con implicaciones significativas para enfermedades crónicas como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), la obesidad y la hipertensión arterial. Los estudios presentados demuestran una correlación consistente entre los niveles elevados de IL-36 y la presencia de DM2, obesidad e hipertensión, sugiriendo su rol en la resistencia a la insulina y la hiperglucemia. Además, la evidencia experimental indica que la inhibición de IL-36 puede mitigar estos efectos metabólicos adversos, resaltando su potencial terapéutico.

Bibliografía/Referencias

1. Fruhbeck, G., Gomez-Ambrosi, J., Ramirez, B., Mentxaka, A., Rodriguez, A., Becerril, S., Reina, G., Valenti, V., Moncada, R., Silva, C., & Catalan, V. (2022). Increased levels of interleukin-36 in obesity and type 2 diabetes fuel adipose tissue inflammation by inducing its own expression and release by adipocytes and macrophages. *Frontiers in Immunology*, 13.
2. Tanase, D. M., Gosav, E. M., Radu, S., Oatu, A., Rezus, C., Ciocoiu, M., Costea, C. F., & Floria, M. (2019). Arterial hypertension and interleukins: Potential therapeutic target or future diagnostic marker? *International Journal of Hypertension*, 2019.
3. Giannoudaki, E., Hernandez-Santana, Y. E., Mulfaul, K., Doyle, S. L., Hams, E., Fallon, P. G., Mat, A., O'Shea, D., Kopf, M., Hogan, A. E., & Walsh, P. T. (2019). Interleukin-36 cytokines alter the intestinal microbiome and can protect against obesity and metabolic dysfunction. *Nature Communications*.