

Efecto del polimorfismo -197G>A en la producción de IL-17A en respuesta a cepas hipervirulentas de *M. tuberculosis*

Ramón Espinosa-Soto,*[‡] Nora Elemi Regino-Zamarripa,*[‡] Gloria León-Ávila,* Silvia Giono-Cerezo,*
Marcela Muñoz-Torrico,[‡] Miguel Ángel Salazar-Lezama,[‡] Eduardo Márquez-García,[‡]
María E. García-Sancho,[‡] Alfredo Cruz-Lagunas,[‡] Criselda Mendoza-Milla,[‡] Luis A. Jiménez-Álvarez,[‡]
Gustavo Ramírez-Martínez,[‡] Joaquín Zúñiga[‡] ✉

*Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México;

[‡]Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, Ciudad de México.

Trabajo recibido: 14-II-2017; aceptado: 29-VI-2017

RESUMEN. Antecedentes: La respuesta inmune Th1/Th2 es insuficiente para el control de la infección por *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), particularmente contra cepas más virulentas como W-Beijing. **Métodos:** Se incluyeron 30 pacientes con tuberculosis activa (TBA) y 30 controles con tuberculosis latente (TBL). Se evaluó la distribución del polimorfismo rs2275913 por PCR tiempo real. Se estimularon células mononucleares (CMN) con antígenos CFP-10 y ESAT-6 y extractos de H37Rv, W-Beijing-HN878. Los niveles de IL-17, IFN- γ se cuantificaron por Luminex. Las diferencias se evaluaron con t de Student y U de Mann-Whitney y valores de $p < 0.05$ fueron significativos. **Resultados:** No se encontró asociación significativa del polimorfismo -197G>A con la susceptibilidad a TBA. Se observó un efecto de la mutación -197G>A en la tasa de expresión de IL-17A. Las CMN de pacientes TBA con genotipo A/G mostraron una mayor producción de IL-17A (185 pg/mL) en relación con las de pacientes G/G (100 pg/mL, $p = 0.008$). Esto no se observó en individuos con TBL. Los antígenos de H37Rv y HN878 estimularon mayor producción de IFN- γ en CMN de pacientes con TBA ($p < 0.05$). **Conclusión:** La presencia del alelo A en la posición -197 del promotor de IL-17A condiciona mayor producción de esta citocina en respuesta a la cepa hipervirulenta W-Beijing-HN878.

Palabras clave: IL-17, polimorfismo -197G>A, tuberculosis, W-Beijing HN878.

ABSTRACT. Background: Th1/Th2 immunity is insufficient to control *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) infection, particularly against more virulent strains such as W-Beijing. **Methods:** Thirty patients with active tuberculosis (TBA) and 30 controls with latent tuberculosis (TBL) were included. The distribution of polymorphism rs2275913 was evaluated by real-time PCR. Mononuclear cells (MNCs) were stimulated with CFP-10 and ESAT-6 antigens and extracts of H37Rv, W-Beijing-HN878. Levels of IL-17, IFN- γ were quantified by Luminex. Differences were assessed with Student t and U of Mann-Whitney and p values < 0.05 were significant. **Results:** No significant association of the 197G>A polymorphism with susceptibility to TBA was found. An effect of the -197G>A mutation was observed on the IL-17A expression rate. The MNCs of TBA patients with A/G genotype showed higher IL-17A (185 pg/mL) production relative to G/G patients (100 pg/mL, $p = 0.008$). This was not observed in individuals with TBL. The antigens of H37Rv and HN878 stimulated higher production of IFN- γ in MNCs of patients with ATB ($p < 0.05$). **Conclusion:** The presence of the A allele at the -197 position of the IL-17A promoter conditions increased production of this cytokine in response to the W-Beijing-HN878 hypervirulent strain.

Key words: IL-17, -197G>A polymorphism, tuberculosis, W-Beijing HN878.

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa ocasionada por *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) que afecta principalmente a los pulmones al provocar una respuesta inflamatoria granulomatosa necrotizante; sin embargo, cualquier sitio extrapulmonar puede ser afectado.¹ Aunque la incidencia de TB ha disminuido de manera gradual (1.5% por año) en el período del 2000-2013; hoy constituye un serio problema de salud

pública a nivel mundial, principalmente en países en vías de desarrollo, aunque también afecta en menor medida a países desarrollados.² En el 2013 se registraron 9 millones de casos nuevos y 1.5 millones de muertes alrededor del mundo.² Después de la infección con virus de inmunodeficiencia humana (VIH), la TB ocupa la segunda causa de muerte por una enfermedad infecciosa en todo el mundo.²

El desarrollo de la enfermedad refleja la estrategia evolutiva que *Mtb* ha empleado durante su interacción

con la respuesta inmune en animales y humanos con la finalidad de asegurar su transmisión a otros huéspedes.¹ En este sentido se sabe que existe variabilidad en el espectro clínico de la infección por *Mtb* entre humanos y que el 90% de los sujetos infectados con *Mtb* desarrolla una infección latente asintomática mientras que aproximadamente el 10% restante de individuos infectados con *Mtb* desarrollará la forma activa de la enfermedad.^{3,4} Hasta el momento no se han dilucidado por completo los factores que influyen en la progresión a la enfermedad activa,⁵⁻⁷ si bien se sabe que existen factores de riesgo para la reactivación de TB, entre ellos están la infección por VIH, inmunosupresión por otras causas como el uso de glucocorticoides y biológicos como anti-TNF, desnutrición, alcoholismo, cáncer, edad avanzada, diabetes y falla renal.⁸⁻¹⁰ En la mayoría de los casos se desconoce la causa específica de reactivación, pero se sabe que el componente genético del huésped tienen una participación importante.^{11,12} La importancia de los factores genéticos que determinan susceptibilidad a TB ha sido estudiada extensamente por medio de diferentes métodos tales como: estudios de casos y controles, estudios funcionales de genes candidatos de susceptibilidad y estudios de asociación del genoma completo (GWAS).^{13,14} La identificación de genes del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) asociados con susceptibilidad o resistencia a TB sugirió posibles marcadores genéticos para predecir el desarrollo de la enfermedad.¹⁵⁻²⁰ No obstante, dichos marcadores genéticos son insuficientes para explicar el amplio espectro de variación en la respuesta inmune ante la infección por *Mtb*. El estudio de polimorfismos clave de genes que no pertenecen al MHC como: citocinas y sus receptores,²¹ la proteína de macrófago 1 asociada con resistencia natural (NRAMP1),^{22,23} receptor purinérgico P2X7²⁴⁻²⁶ y receptores de reconocimiento de patrones [receptores tipo Toll (TLR)^{27,28} y receptores de lectina que unen manosa (MBL)^{29,30}] ampliaron el panorama respecto algunos genes candidatos importantes en la progresión de la enfermedad.

Otros polimorfismos de genes de citocinas que han sido identificados como candidatos en la susceptibilidad a TB son: IL-1B, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α).³¹⁻³⁹

Existen algunos estudios de polimorfismos del gen de IL-17 en diferentes poblaciones del mundo que hasta el momento han mostrado resultados discordantes. El objetivo de nuestro estudio fue investigar si el SNP -197 G>A de IL-17A se asocia con susceptibilidad genética a TB pulmonar activa (TBA) en población mexicana a través de un estudio de casos y controles. También nos propusimos evaluar el efecto funcional del genotipo del

polimorfismo -197G>A en la producción de IL-17A frente a diferentes estímulos micobacterianos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio

Se obtuvieron muestras de sangre periférica de 30 pacientes con TBA y 30 individuos con tuberculosis latente (TBL) en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas de la Ciudad de México entre enero del 2015 y diciembre del 2016. Los pacientes con TBA fueron mayores de 18 años, con diagnóstico de tuberculosis pulmonar confirmado por clínica, estudios radiológicos, baciloscopia (BAAR) y cultivo positivo para *Mtb*. De manera simultánea se obtuvieron las muestras de individuos con TBL, los cuales tuvieron un resultado positivo a las pruebas de ensayo de liberación de IFN- γ (QuantIFERON-TB Gold In-Tube) y a la aplicación de derivado proteínico purificado (PPD). Todos los individuos con TBL tuvieron pruebas positivas de ensayo de liberación de IFN- γ (QuantIFERON-TB Gold In-Tube) y resultado positivo a la aplicación de PPD. Los criterios de exclusión para los participantes fueron la presencia de comorbilidades como enfermedades autoinmunes, cáncer e infección por VIH.

Todos los participantes del estudio fueron considerados mestizos mexicanos, sin antecedentes heredo-familiares de ancestros extranjeros al menos por dos generaciones. El estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Ética en Investigación y de Investigación del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas y sólo se incluyeron individuos que firmaron carta de consentimiento informado.

Extracción de DNA y genotipificación del polimorfismo -197G>A de IL-17A

Se aisló DNA de sangre periférica anticoagulada en tubos con EDTA por medio de columnas de afinidad QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAamp Genomic DNA Isolation Mini Kit; Qiagen, Shanghai, China) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El análisis de genotipificación del polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) rs2275913 de la región promotora (-197G>A) de IL-17A se llevó a cabo por discriminación alélica con sondas TaqMan en reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR). La amplificación se realizó bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 94 °C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 45 segundos, alineamiento a 62 °C por 60 segundos y extensión a 72 °C por 60 segundos, y ex-

tensión final a 72 °C por 10 minutos en un termociclador StepOne (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Producción de IL-17A e IFN- γ por células mononucleares de sangre periférica cultivadas con antígenos de Mtb

Se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (CMNSP) anticoagulada con ácido-citrato-dextrosa (ACD) por centrifugación con un gradiente de densidad. Se cultivaron 5×10^5 CMNSP en medio RPMI 1640 con L-glutamina suplementado con suero fetal bovino al 10% por duplicado en placas de 48 pozos. Las células se estimularon con antígenos de micobacterias: ESAT-6, CFP-10, pared celular de H37Rv, pared celular de la cepa HN878 y medio de cultivo RPMI como control negativo. La concentración final de los antígenos fue de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Las células estimuladas se incubaron durante 72 horas a 37 °C y 5% de CO_2 . Las células fueron cosechadas al tercer día, se aisló el sobrenadante y se congeló a -20 °C hasta su uso. Se midió la producción de citocinas en los sobrenadantes de las diferentes condiciones experimentales, utilizando un panel múltiple de la vía Th17 con el método de luminometría con el equipo BioPlex-200 (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA).

Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados con el paquete computacional SPSS (versión 21) y GraphPad Prism (versión 6.00 for Mac, GraphPad Software, San Diego California, USA, www.graphpad.com). Se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, de acuerdo con la distribución de las variables continuas se reportaron como frecuencia y desviación estándar (DE). El nivel de producción de citocinas se reportó como mediana y rango intercuartil (IQR). Las variables categóricas se expresaron con porcentajes. Para comparar la frecuencia de genotipos y alelos entre casos y controles se utilizó la prueba de χ^2 . Primero se comparó la diferencia en la producción de citocinas en ausencia de estímulos entre casos y controles por medio de la prueba de Mann-Whitney. Después se utilizó el análisis de varianza de un factor (ANOVA de una vía) para comparar la producción de citocinas dentro de cada grupo con los diferentes estímulos y en el caso de existir diferencia entre medias, se usó la prueba *a posteriori* de comparación múltiple de Tukey. Se realizó la prueba de Mann-Whitney para comparar dentro de cada grupo con cada estímulo, la diferencia en producción de IL-17A por cada genotipo. Para todos los análisis se consideró un valor de *p* de dos colas < 0.05 como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 60 individuos: 30 casos con TBA (33% mujeres y 67% hombres) y 30 individuos con TBL (67% mujeres y 33% hombres). El promedio de edad en el grupo de TBL fue de 39.3 ± 13 años, mientras que en los casos con TBA fue 38 ± 10 años. El índice de masa corporal (IMC) fue significativamente mayor en el grupo de sujetos con TBL en comparación con pacientes con TBA ($p < 0.0001$) (tabla 1).

El polimorfismo -197G>A de IL17A no se asocia significativamente con la susceptibilidad a TBA, pero sí influye en la producción de IL-17A en sujetos infectados con la forma activa de la enfermedad

Los resultados de la distribución de genotipos y alelos del polimorfismo rs2275913 de IL17A se muestran en la tabla 2. El genotipo predominante en ambos grupos fue el homocigoto para guanina (GG) con 66% en controles y 70% en casos, el genotipo heterocigoto (GA) se encontró en el 30% en ambas poblaciones. Asimismo,

Tabla 1. Características de los grupos estudiados.

	TBA (n = 30)	TBL (n = 30)	Valor p
Edad promedio años \pm DE	38 \pm 10	39 \pm 13	ns
Género n (%)			
Femenino	10 (33)	20 (67)	
Masculino	20 (67)	10 (33)	0.02
IMC promedio \pm DE	21.0 \pm 3.6	30.3 \pm 4.9	0.0001
Diabetes n (%)	11 (37)	1 (3)	0.003
VIH n (%)	0 (0)	1 (3)	ns
Diagnóstico n (%)			
Baciloscopia +	23 (77)	NA	
Cultivo +	30 (100)	NA	
A partir de:			
LBA	6 (20)	NA	
Espudo	24 (80)	NA	
Patrón de resistencia n (%)			
Mtb MDR	5 (17)	NA	
Mtb sensible	25 (83)	NA	
Procedencia n (%)			
Ciudad de México	14 (47)	18 (60)	
Estado de México	10 (33)	9 (30)	
Chiapas	1 (3)	2 (7)	
Guerrero	2 (7)	1 (3)	
Veracruz	1 (3)		
Quintana Roo	1 (3)		
Baja California Sur	1 (3)		

ns: no significativo.

se analizó la distribución alélica registrando para el alelo guanina un 85% en casos y 82% en controles, para el alelo adenina se obtuvo 15% en casos y 18% en controles. No se encontró diferencia significativa en la distribución genotípica y alélica entre casos y controles ($p = 1.0$, $p = 0.8565$, respectivamente).

La producción de IL-17A en forma basal, es decir, en ausencia de estímulos micobacterianos fue significativamente mayor por parte de células de pacientes con TBA comparado con células de sujetos con TBL ($p = 0.007$) (figura 1A). La mediana (IQR) de IL-17A fue de 27.2 y 51.2 pg/mL para los grupos de TBL y TBA, respectivamente.

Al evaluar la producción de IL-17A dentro de cada grupo frente a los diferentes estímulos micobacterianos, las células de sujetos con TBL mostraron una mayor producción de esta citocina tras el estímulo con la pared celular de la cepa H37Rv. Sólo se encontraron diferencias significativas al comparar los niveles de IL-17A inducida por H37Rv, en relación con la producción inducida por el antígeno CFP-10 ($p = 0.007$) (figura 1B). Se observó una mayor producción de IL-17A en células de pacientes con TBA estimuladas con el antígeno HN878, si bien sólo se alcanzó diferencia significativa al compararla con la producción de IL-17A por células estimuladas con el antígeno CFP-10 ($p = 0.003$) (figura 1B).

El polimorfismo rs2275913 no influyó en la producción de IL-17A en células de individuos con TBL después de estimular con los antígenos ESAT-6, HN878 y H37Rv. No obstante, se encontró una mayor producción de IL17A en cultivos de células de individuos homocigotos G/G, en relación con células aisladas de sujetos heterocigotos A/G estimuladas con CFP-10 ($p = 0.004$) (figura 1C). En el grupo con TBA la influencia del genotipo fue evidente tras la estimulación con HN878 y H37rv. Sin embargo, sólo se observó diferencia significativa con HN878, en el que sujetos heterocigotos A/G tuvieron

mayor producción de IL-17A en comparación con los sujetos con genotipo GG ($p = 0.008$) (figura 1D).

La estimulación con antígenos de *Mtb* induce alta producción de IFN- γ por células de pacientes con TBA

El grupo con TBA mostró mayor producción de IFN- γ en ausencia de estímulos de manera significativa al compararlo con el grupo de TBL ($p = 0.029$) (figura 2A). La mediana (IQR) de IFN- γ fue de 17.3 (10.1-32.0) y 25.8 (20.6-39.2) pg/mL para los grupos de TBL y TBA, respectivamente. Al analizar la producción de esta citocina con diferentes estímulos no se encontraron diferencias significativas en el grupo de TBL, mientras que en los pacientes con TBA se encontraron diferencias significativas entre: ESAT-6 y HN878 ($p = 0.008$); ESAT-6 y H37rv ($p = 0.014$); CFP-10 y HN878 ($p = 0.001$) y finalmente entre CFP-10 y H37rv ($p = 0.002$) (figura 2B).

DISCUSIÓN

Se han descrito ampliamente las funciones de las citocinas Th17 en el control de la respuesta inmune contra *Mtb*.⁴⁰⁻⁴² Los polimorfismos en genes de citocinas, en particular las relacionadas con el control de la respuesta contra micobacterias, pueden alterar sitios de reconocimiento para factores de transcripción y, por ende, afectan la activación transcripcional y conllevan a niveles alterados de citocinas.⁴³ Diversos estudios han involucrado la participación de IL-17A en la inmunopatogénesis de TB, por esta razón se ha promovido el estudio de variaciones en sus genes con la asociación a esta enfermedad. El SNP rs2275913 ubicado en la posición -197G>A del gen de IL-17A se localiza dentro de un motivo de unión al factor nuclear activado de células T (NFAT), el cual parece actuar como regulador importante del promotor de IL-17.^{44,45}

Tabla 2. Frecuencias génicas y genotípicas del polimorfismo -197A>G de IL-17A en pacientes con TBA y sujetos con TBL.

Polimorfismo (-197G>A) rs 2275913	TB latente (n = 30)		TB activa (n = 30)		Valor p
	n	F	n	F	
Genotipos					
GG	20	0.66	21	0.70	ns
GA	10	0.30	9	0.30	ns
AA	0	0.03	0	0.0	ns
Alelos					
G	49	0.82	51	0.85	ns
A	11	0.18	9	0.15	ns

F: frecuencia; ns: no significativo.

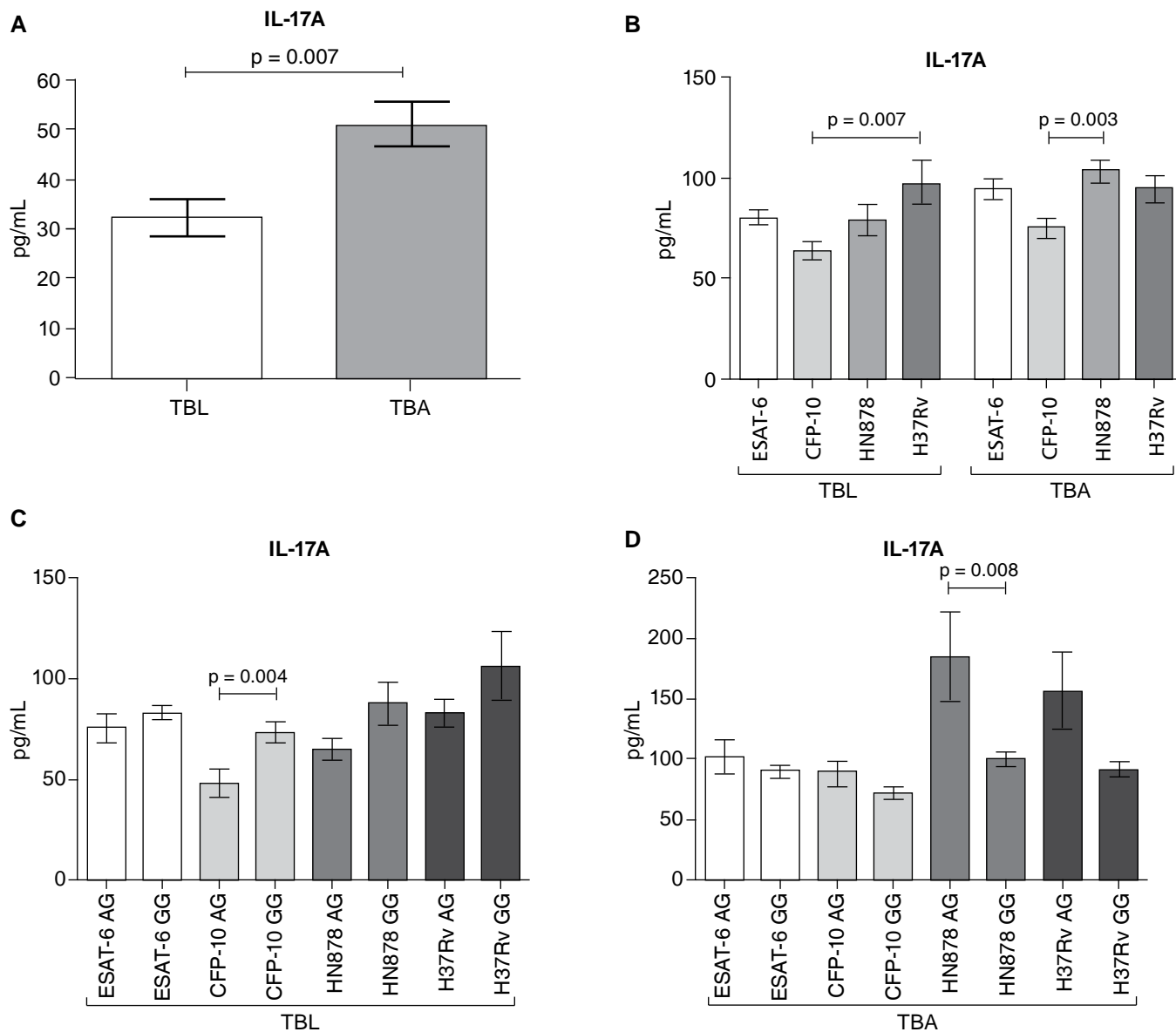


Figura 1. Producción de IL-17A por CMNSP. **A)** Casos y controles sin estímulo. **B)** Ante ESAT-6, CFP-10, HN878 y H37Rv en cada grupo. **C)** Influencia del genotipo en cada estímulo en controles. **D)** Influencia del genotipo en cada estímulo en casos. Las diferencias significativas son indicadas por una línea con el valor de p .

En el presente trabajo se estudió la asociación de las variaciones en la posición -197G>A del gen de IL-17A con TBA en un reducido grupo de pacientes mexicanos atendidos en un hospital de tercer nivel.

El primer estudio de casos y controles donde se evaluó la correlación entre polimorfismos del gen de IL-17 y TBA fue hecho en población china.⁴⁶ El estudio reportó diferencia en la distribución del genotipo CT entre casos y controles, asociando positivamente al genotipo CT del SNP rs763789 (IL-17F) con TBA y tuberculosis extrapulmonar (TBEP), mientras que el

genotipo TT tuvo un papel protector. No relacionaron al SNP rs2275913 (IL-17A) con TBA ni con TBEP.⁴⁶ Otro estudio realizado también en población china examinó en forma similar la relación de SNPs del gen de IL-17 y TBA.⁴⁷ Se observó que los individuos portadores del genotipo AA del SNP rs2275913 y del genotipo CC del SNP rs763780 se asociaron con riesgo incrementado de TBA [OR = 2.20 (IC 95%: 1.35-3.60) y OR = 1.99 (IC 95%: 1.05-3.87) respectivamente].⁴⁷ Recién se ha reportado SNPs en IL-17A e IL-6 con un efecto protector en el desarrollo de TBA en población

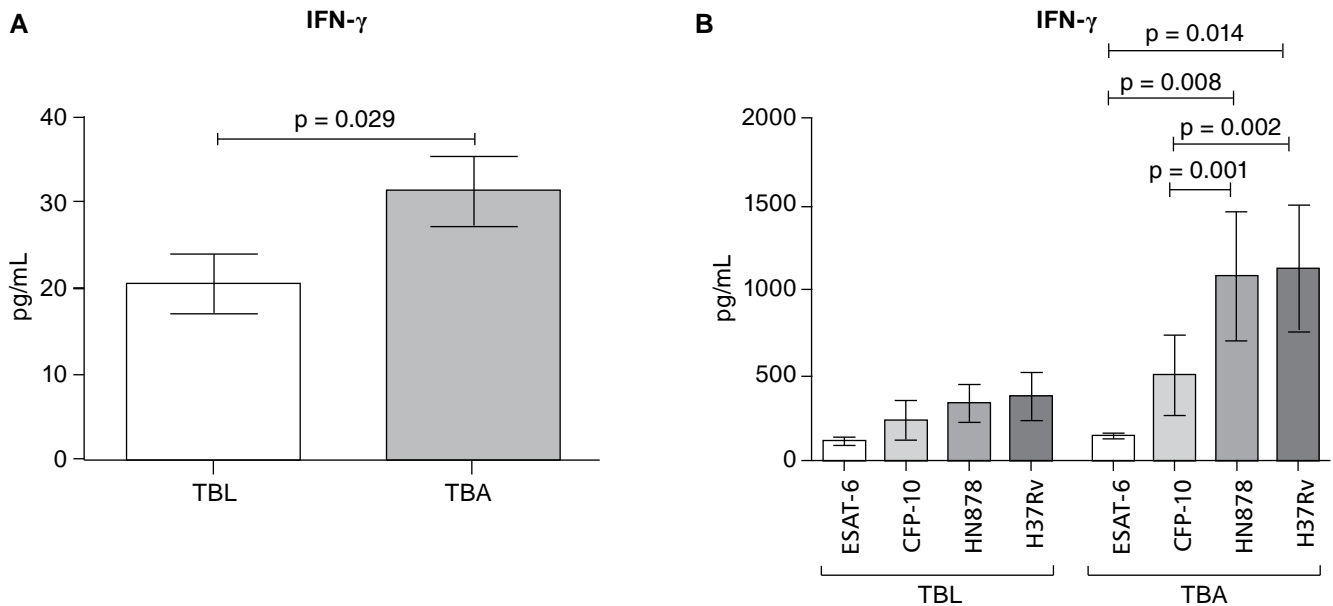


Figura 2. Producción de IFN- γ por CMNSP. **A)** Casos y controles sin estímulo. **B)** Ante ESAT-6, CFP-10, HN878 y H37Rv en cada grupo. Las diferencias significativas son indicadas por una línea con el valor de p .

al sur de Brasil.⁴⁸ Fueron incluidos 366 participantes en quienes encontraron mayor presencia del alelo A del SNP rs2275913 en el grupo control al compararlo con los casos ($p = 0.004$). Por medio de un modelo de regresión logística encontraron riesgo disminuido para el desarrollo de TBA entre sujetos con genotipo AA y portadores del alelo A [OR = 0.12 (IC 95%: 0.02-0.64) y OR = 0.29 (IC 95%: 0.14-0.58) respectivamente].⁴⁸ Por otra parte, en población al norte de India se reportó un estudio con falta de asociación de los SNPs rs2275913 y rs763780 con la susceptibilidad a TBA. Este mismo grupo de trabajo tampoco encontró asociación entre los niveles séricos de IL-17 A y F con los genotipos que estudiaron.⁴⁹ Otro estudio realizado con población caucásica al norte de España, además de buscar asociación entre el SNP rs2275913 y TBA evaluó los niveles séricos de IL-17A.⁵⁰ Este último trabajo encontró asociación entre sujetos con el genotipo GG y portadores del alelo G con riesgo incrementado a TBA [OR = 1.59 (IC 95%: 1.09-2.31) y OR = 1.40 (IC 95%: 1.06-1.86) respectivamente]. Respecto a los niveles séricos de IL-17A, encontraron mayor concentración en el grupo de casos en comparación con los controles ($p < 0.0001$). Sin embargo, no hallaron diferencias significativas en la producción de IL-17A después de estimular sangre total con ESAT-6, CFP-10 y PHA al compararlo con sangre no estimulada. Tampoco encontraron diferencias en los niveles de IL-17A en suero ni en plasma estimulado entre sujetos con TBA portadores de diferentes genotipos.⁵⁰ En un trabajo

previo se estudió una población indígena de Oaxaca, México, en la cual describimos una asociación significativa entre el genotipo GG del polimorfismo rs2275913 del IL-17A con la susceptibilidad a TBA (Domingo R, *et al.*, manuscrito en preparación). Los resultados de nuestro trabajo no mostraron diferencias significativas en la distribución alélica ni genotípica del SNP rs2275913 de IL-17A en la población estudiada, la cual tiene un origen étnico diferente, ya que proviene de población del centro del país y con un componente amerindio menor. Además, la falta de asociación en este estudio también puede deberse principalmente al reducido tamaño de la población, en comparación con el gran número de participantes incluidos en los trabajos previamente descritos.

Respecto a los estudios *in vitro* realizados en este trabajo, se encontró mayor producción de IL-17A en CMNSP de sujetos con TBA en ausencia de estímulos al compararlos con los controles. Lo cual es esperado debido a todas las funciones proinflamatorias que cumplen en la defensa del huésped contra la micobacteria.⁵¹ Se evaluó la producción de IL-17A en el grupo de sujetos con TB latente ante diferentes estímulos micobacterianos y los niveles de citocina fueron mayores en el estímulo con pared celular de *Mtb* HN878 de la familia W-Beijing en comparación con el antígeno clásico de *Mtb* CFP-10. La cepa de *Mtb* HN878 en modelos de infección experimentales se le considera hipervirulenta, resultado del incremento en la mortalidad y el exacerbado daño inmunológico

que ocasiona.⁵² Se estudió la relevancia funcional del SNP rs2275913 al comparar la producción de IL-17A por cada genotipo ante los diferentes estímulos dentro de cada grupo. Cabe destacar que los sujetos portadores del alelo A en el GA tuvieron mayores niveles de IL-1A en comparación con el genotipo GG. Estos hallazgos podrían ser explicados por el papel protector que IL-17 tiene en la inmunidad contra la infección por *Mtb* HN878.⁵³

Mtb posee la habilidad para inducir respuestas inmunes de tipo Th1 y Th17. El papel protector de IFN- γ es bien conocido y consiste esencialmente en inducir respuestas celulares que admiten el reclutamiento de células inflamatorias, y la producción de mediadores importantes en el control de macrófagos infectados con *Mtb* y que facilita la maduración de granulomas con capacidad funcional que permitan contener la infección por *Mtb*.⁴⁰ En el mismo contexto IL-17A, entre otras citocinas y quimiocinas, también contribuye en la formación del granuloma inducido por la infección micobacteriana.⁵⁴ Una respuesta excesiva por IL-17 se asocia con la patogénesis de afecciones respiratorias crónicas mediadas inflamación neutrofílica y remodelado de la vía aérea.^{54,55} El balance en la producción de mediadores inflamatorios como IFN- γ , en respuesta a *Mtb*, y los factores que regulan los procesos inflamatorios así como las moléculas de la vía IL-23/IL-17 es determinante para un control eficaz del crecimiento de *Mtb*.⁵¹

Consideramos que se necesitan más estudios funcionales *in vitro* y en modelos experimentales de animales que permitan dilucidar el papel que las variaciones en el gen de IL-17 desempeñan en la susceptibilidad a TB.

CONCLUSIÓN

La presencia del alelo A en la posición -197 del gen de IL-17A condiciona mayor producción de esta citocina en CMNSP de sujetos con TBA frente al estímulo HN878.

Agradecimientos

Este estudio recibió financiamiento de fondos federales para investigación del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas y del Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social (FOSISS) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), proyecto número 272481.

Los resultados de este trabajo fueron utilizados por el estudiante Ramón Espinosa Soto para elaborar la tesis de grado de Maestría en Ciencias en el programa de Maestría en Ciencias Químico Biológicas de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN.

REFERENCIAS

1. Dheda K, Barry CE 3rd, Maartens G. *Tuberculosis*. Lancet 2015;1-17. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00151-8.
2. World Health Organization. *Global Tuberculosis Report 2014*. Geneva, Switzerland; 2014. doi: 10.1016/j.icrp.2009.12.007.
3. Zumla A, Raviglione M, Hafner R, von Reyn CF. *Tuberculosis*. N Engl J Med 2013;368(8):745-755. doi: 10.1056/NEJMra1200894.
4. Druszczyńska M, Kowalewicz-Kulbat M, Fol M, Włodarczyk M, Rudnicka W. *Latent M. tuberculosis infection-pathogenesis, diagnosis, treatment and prevention strategies*. Pol J Microbiol 2012;61(1):3-10.
5. Lillebaek T, Dirksen A, Baess I, Strunge B, Thomsen VØ, Andersen AB. *Molecular evidence of endogenous reactivation of Mycobacterium tuberculosis after 33 years of latent infection*. J Infect Dis 2002;185(3):401-404. doi: 10.1086/338342.
6. Yang Z, Rosenthal M, Rosenberg NA, et al. *How dormant is Mycobacterium tuberculosis during latency? A study integrating genomics and molecular epidemiology*. Infect Genet Evol 2011;11(5):1164-1167. doi: 10.1016/j.pestbp.2011.02.012. Investigations.
7. Flynn J, Chan J. *Tuberculosis: latency and reactivation*. Infect Immun 2001;69(7):4195-4201. doi: 10.1128/IAI.69.7.4195.
8. Lönnroth K, Raviglione M. *Global epidemiology of tuberculosis: Prospects for control*. Semin Respir Crit Care Med 2008;29(5):481-491. doi: 10.1055/s-0028-1085700.
9. Tufariello JM, Chan J, Flynn JL. *Latent tuberculosis: Mechanisms of host and bacillus that contribute to persistent infection*. Lancet Infect Dis 2003;3(9):578-590. doi: 10.1016/S1473-3099(03)00741-2.
10. Horsburgh CR Jr. *Priorities for the treatment of latent tuberculosis infection in the United States*. N Engl J Med 2004;350(20):2060-2067. doi: 10.1056/NEJMsa031667\ r350/20/2060 [pii].
11. Cobat A, Gallant CJ, Simkin L, et al. *Two loci control tuberculin skin test reactivity in an area hyperendemic for tuberculosis*. J Exp Med 2009;206(12):2583-2591. doi: 10.1084/jem.20090892.
12. Barry CE 3rd, Boshoff H, Dartois V, et al. *The spectrum of latent tuberculosis: rethinking the goals of prophylaxis*. Nat Rev Microbiol 2009;7(12):845-855. doi: 10.1038/nrmicro2236.The.
13. Yim JJ, Selvaraj P. *Genetic susceptibility in tuberculosis*. Respirology 2010;15(2):241-256. doi: 10.1111/j.1440-1843.2009.01690.x.
14. Bellamy R. *Genome-wide approaches to identifying genetic factors in host susceptibility to tuberculosis*. Microbes Infect 2006;8(4):1119-1123. doi: 10.1016/j.micinf.2005.10.025.
15. Selby R, Barnard JM, Buehler SK, Crumley J, Larsen B, Marshall WH. *Tuberculosis associated with HLA-B*8, B*5 in a Newfoundland community study*. Tissue Antigens 1978;11(5):403-408. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query>.

- fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=694904.
16. Al-Arif LI, Goldstein RA, Affronti LF, Janicki BW. *HLA-Bw15 and tuberculosis in a North American black population*. Am Rev Respir Dis 1979;120(6):1275-1278. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=517859.
 17. Hafez M, EL-Salab S, EL-Shennawy F, Bassiony MR. *HLA-antigens and tuberculosis in the Egyptian population*. Tubercle 1985;66(1):35-40. doi: 10.1016/0041-3879(85)90051-0.
 18. Khomenko AG, Litvinov VI, Chukanova VP, Pospelov LE. *Tuberculosis in patients with various HLA phenotypes*. Tubercle 1990;71(3):187-192. doi: 10.1016/0041-3879(90)90074-1.
 19. Selvaraj P, Reetha AM, Uma H, et al. *Influence of HLA-DR and -DO phenotypes on tuberculin reactive status in pulmonary tuberculosis patients*. Tuber Lung Dis 1996;77(4):369-373. doi: 10.1016/S0962-8479(96)90104-5.
 20. Dubaniewicz A, Lewko B, Moszkowska G, Zamorska B, Stepinski J. *Molecular subtypes of the HLA-DR antigens in pulmonary tuberculosis*. Int J Infect Dis 2000;4(3):129-133. doi: 10.1016/S1201-9712(00)90073-0.
 21. Fol M, Druszczynska M, Wlodarczyk M, Ograczyk E, Rudnicka W. *Immune response gene polymorphisms in tuberculosis*. Acta Biochim Pol 2015;62(4):633-640. doi: 10.18388/abp.2015_1130.
 22. Ryu S, Park YK, Bai GH, Kim SJ, Park SN, Kang S. *3'UTR polymorphisms in the NRAMP1 gene are associated with susceptibility to tuberculosis in Koreans*. Int J Tuberc Lung Dis 2000;4(6):577-580.
 23. Malik S, Abel L, Tooker H, et al. *Alleles of the NRAMP1 gene are risk factors for a pediatric tuberculosis disease*. Proc Natl Acad Sci U S A 2005;102(34):12183-12188. doi: 10.1073/pnas.0503368102.
 24. Ge HB, Chen S. *A meta-analysis of P2X7 gene-1513A/C polymorphism and pulmonary tuberculosis susceptibility*. Hum Immunol 2016;77(1):126-130. doi: 10.1016/j.humimm.2015.11.009.
 25. Singla N, Gupta D, Joshi A, Batra N, Singh J. *Genetic polymorphisms in the P2X7 gene and its association with susceptibility to tuberculosis*. Int J Tuberc Lung Dis 2012;16(2):224-229. doi: 10.5588/ijtld.11.0076.
 26. Li CM, Campbell SJ, Kumararatne DS, et al. *Association of a polymorphism in the P2X7 gene with tuberculosis in a Gambian population*. J Infect Dis 2002;186(10):1458-1462. doi: 10.1086/344351.
 27. Schurz H, Daya M, Möller M, Hoal EG, Salie M. *TLR1, 2, 4, 6 and 9 variants associated with tuberculosis susceptibility: A systematic review and meta-analysis*. PLoS One 2015;10(10):e0139711. doi: 10.1371/journal.pone.0139711.
 28. Wu H, Yang L. *Arg753Gln polymorphisms in toll-like receptor 2 gene are associated with tuberculosis risk: A meta-analysis*. Med Sci Monit 2015;21:2196-2202. doi: 10.12659/MSM.893214.
 29. Shi J, Xie M, Wang J, Xu Y, Xiong W, Liu X. *Mannose-binding lectin two gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility in Chinese population: a meta-analysis*. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci 2013;33(2):166-171. doi: 10.1007/s11596-013-1091-1.
 30. Singla N, Gupta D, Joshi A, Batra N, Singh J, Birbian N. *Association of mannose-binding lectin gene polymorphism with tuberculosis susceptibility and sputum conversion time*. Int J Immunogenet 2012;39(1):10-14. doi: 10.1111/j.1744-313X.2011.01047.x.
 31. Awomoyi AA, Charurat M, Marchant A, et al. *Polymorphism in IL1B: IL1B-511 association with tuberculosis and decreased lipopolysaccharide-induced IL-1beta in IFN-gamma primed ex-vivo whole blood assay*. J Endotoxin Res 2005;11(5):281-286. doi: 10.1179/096805105X58706.
 32. Gomez LM, Camargo JF, Castiblanco J, Ruiz-Narváez EA, Cadena J, Anaya JM. *Analysis of IL1B, TAP1, TAP2 and IKBL polymorphisms on susceptibility to tuberculosis*. Tissue Antigens 2006;67(4):290-296. doi: 10.1111/j.1399-0039.2006.00566.x.
 33. Selvaraj P, Alagarasu K, Harishankar M, Vidyarani M, Nisha Rajeswari D, Narayanan PR. *Cytokine gene polymorphisms and cytokine levels in pulmonary tuberculosis*. Cytokine 2008;43(1):26-33. doi: 10.1016/j.cyt.2008.04.011.
 34. Trajkov D, Trajchevska M, Arsov T, et al. *Association of 22 cytokine gene polymorphisms with tuberculosis in Macedonians*. Indian J Tuberc 2009;56(3):117-131.
 35. Vidyarani M, Selvaraj P, Prabhu Anand S, Jawahar MS, Adhilakshmi AR, Narayanan PR. *Interferon gamma (IFN-gamma) & interleukin-4 (IL-4) gene variants & cytokine levels in pulmonary tuberculosis*. Indian J Med Res 2006;124(4):403-410. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17159260>.
 36. Amirzargar AA, Rezaei N, Jabbari H, et al. *Cytokine single nucleotide polymorphisms in Iranian patients with pulmonary tuberculosis*. Eur Cytokine Netw 2006;17(2):84-89. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16840026>.
 37. Delgado JC, Baena A, Thim S, Goldfeld AE. *Ethnic-specific genetic associations with pulmonary tuberculosis*. J Infect Dis 2002;186(10):1463-1468. doi: 10.1086/344891.
 38. Ma X, Reich RA, Wright JA, et al. *Association between interleukin-8 gene alleles and human susceptibility to tuberculosis disease*. J Infect Dis 2003;188(3):349-355. doi: 10.1086/376559.
 39. Varahram M, Farnia P, Nasiri MJ, Karahrudi MA, Dizagie MK, Velayati AA. *Association of Mycobacterium tuberculosis lineages with IFN-γ and TNF-α gene polymorphisms among pulmonary tuberculosis patient*. Mediterr J Hematol Infect Dis 2014;6(1):e2014015. doi: 10.4084/MJHID.2014.015.
 40. Okamoto Yoshida Y, Umemura M, Yahagi A, et al. *Essential role of IL-17A in the formation of a mycobacterial infection-induced granuloma in the lung*. J Immunol 2010;184(8):4414-4422. doi: 10.4049/jimmunol.0903332.
 41. Dhiman R, Indramohan M, Barnes PF, et al. *IL-22 produced by human NK cells inhibits growth of Mycobacterium tuberculosis by enhancing phagolysosomal*

- fusion*. J Immunol 2009;183(10):6639-6645. doi: jimmunol.0902587 [pii]r10.4049/jimmunol.0902587.
42. Cowan J, Pandey S, Fillion LG, Angel JB, Kumar A, Cameron DW. Comparison of interferon- γ , interleukin (IL)-17- and IL-22-expressing CD4 T cells, IL-22-expressing granulocytes and proinflammatory cytokines during latent and active tuberculosis infection. Clin Exp Immunol 2012;167(2):317-329. doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04520.x.
 43. Pravica V, Perrey C, Stevens A, Lee JH, Hutchinson IV. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN- γ gene: Absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN- γ production. Hum Immunol 2000;61(9):863-866. doi: 10.1016/S0198-8859(00)00167-1.
 44. Liu XK, Lin X, Gaffen SL. Crucial role for nuclear factor of activated T cells in T cell receptor-mediated regulation of human interleukin-17. J Biol Chem 2004;279(50):52762-52771. doi: 10.1074/jbc.M405764200.
 45. Espinoza JL, Takami A, Nakata K, et al. A genetic variant in the IL-17 promoter is functionally associated with acute graft-versus-host disease after unrelated bone marrow transplantation. PLoS One 2011;6(10):e26229. doi: 10.1371/journal.pone.0026229.
 46. Peng R, Yue J, Han M, Zhao Y, Liu L, Liang L. The IL-17F sequence variant is associated with susceptibility to tuberculosis. Gene 2013;515(1):229-232. doi: 10.1016/j.gene.2012.11.017.
 47. Shi GC, Zhang LG. Influence of interleukin-17 gene polymorphisms on the development of pulmonary tuberculosis. Genet Mol Res 2015;14(3):8526-8531. doi: 10.4238/2015.July.28.22.
 48. Milano M, Moraes MO, Rodenbusch R, et al. Single nucleotide polymorphisms in IL17A and IL6 are associated with decreased risk for pulmonary tuberculosis in Southern Brazilian Population. PLoS One 2016;11(2):e0147814. doi: 10.1371/journal.pone.0147814.
 49. Abhimanyu, Bose M, Komal, Varma-Basil M. Lack of association between IL17A and IL17F polymorphisms and related serum levels in north Indians with tuberculosis. Gene 2013;529(1):195-198. doi: 10.1016/j.gene.2013.06.090.
 50. Ocejo-Vinyals JG, de Mateo EP, Hoz MA, et al. The IL-17 G-152A single nucleotide polymorphism is associated with pulmonary tuberculosis in northern Spain. Cytokine 2013;64(1):58-61. doi: 10.1016/j.cyto.2013.05.022.
 51. Khader SA, Cooper AM. IL-23 and IL-17 in tuberculosis. Cytokine 2008;41(2):79-83. doi: 10.1016/j.cyto.2007.11.022.
 52. Ordway D, Henao-Tamayo M, Harton M, et al. The hypervirulent Mycobacterium tuberculosis strain HN878 induces a potent TH1 response followed by rapid down-regulation. J Immunol 2007;179(1):522-531. doi: 179/1/522 [pii].
 53. Gopal R, Monin L, Slight S, et al. Unexpected role for IL-17 in protective immunity against hypervirulent Mycobacterium tuberculosis HN878 infection. PLoS Pathog 2014;10(5):e1004099. doi: 10.1371/journal.ppat.1004099.
 54. Tan HL, Rosenthal M. IL-17 in lung disease: friend or foe? Thorax 2013;68(8):788-790. doi: 10.1136/thoraxjnl-2013-203307.
 55. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. Altern Med Rev 2003;8(3):223-246.

✉ **Correspondencia:**

Dr. Joaquín Zúñiga
Director de Investigación, Instituto Nacional de
Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.
Calzada de Tlalpan Núm. 4502, colonia Sección XVI,
14080, Del. Tlalpan, Ciudad de México.
Teléfono: 54871700, ext. 4027
Correo electrónico: joazu@yahoo.com

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.