



UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
DIVISIÓN BIBLIOTECA EDUARDO COTE LAMUS



RESUMEN TRABAJO DE GRADO

NOMBRE(S): LUZ FRANCY APELLIDOS: YAÑEZ MENESES

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PROGRAMA DE: INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): KARINA APELLIDOS: PINO LAGOS

TÍTULO DE LA TESIS: ROL DE IL-33 Y ÁCIDO RETINOICO EN LA POLARIZACION DE LA RESPUESTA INMUNE CELULAR ADAPTATIVA. POTENCIALES BLANCOS PARA PROMOVER LA ACEPTACION DE TRASPLANTE

RESUMEN

En el presente trabajo de grado se comprendió la contribución de IL-33 y el ácido retinoico en la respuesta inmune que se mide por los linfocitos T CD4+. Además se identificaron las células productoras de IL-33 y se evaluó la participación de la vía de señalización de la IL-33 en la respuesta que dan los linfocitos se paso también a caracterizar las células T reguladoras al inducirlas con ácido retinoico con el método in Vitro y por ultimo se evaluó la funcionalidad de las células Tregs en un ensayo de supresión.

PALABRAS CLAVE: Acido retinoico, células, IL-33, linfocitos, in Vitro, inmune

CARACTERISTICAS:

PÁGINAS: 78 PLANOS:     ILUSTRACIONES:     CD ROOM: 1

ROL DE IL-33 Y ÁCIDO RETINOICO EN LA POLARIZACIÓN DE LA RESPUESTA  
INMUNE CELULAR ADAPTATIVA. POTENCIALES BLANCOS PARA PROMOVER LA  
ACEPTACIÓN DE TRASPLANTE

LUZ FRANCY YÁÑEZ MENESES

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA  
SAN JOSE DE CUCUTA

2016

ROL DE IL-33 Y ÁCIDO RETINOICO EN LA POLARIZACIÓN DE LA RESPUESTA  
INMUNE CELULAR ADAPTATIVA. POTENCIALES BLANCOS PARA PROMOVER LA  
ACEPTACIÓN DE TRASPLANTE

LUZ FRANCY YÁÑEZ MENESES

Proyecto de grado presentado como requisito para optar al título profesional de:  
Ingeniería Biotecnológica

Directora

Karina Pino Lagos

Ingeniera en Biotecnología Molecular, PhD en Inmunología

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA  
SAN JOSE DE CÚCUTA

2016



**ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO**

**FECHA:** 5 DE FEBRERO DE 2016

**HORA:** 09:00A.M.

**LUGAR:** LE 101

**PLAN DE ESTUDIOS:** INGENIERIA BIOTECNOLÓGICA

**TITULO:** ROL DE LA IL-33 Y ÁCIDO RETINOICO EN LA POLARIZACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE CELULAR ADAPTATIVA. POTENCIALES BLANCOS PARA PROMOVER LA ACEPTACIÓN DE TRASPLANTE

**MODALIDAD:** INVESTIGACIÓN

**JURADO:** MAYRA CONTRERAS ROJAS  
LILIANA YANET SUAREZ CONTRERAS  
OSCAR ORLANDO PINILLA MANTILLA

**DIRECTOR:** KARINA PINO LAGOS  
PROFESOR ASISTENTE UNIVERSIDAD DE LOS ANDES, CHILE

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
LUZ FRANCY YAÑEZ MENESES	1610653	4.8

**OBSERVACIONES:**  
MERITORIO

**FIRMA DE LOS JURADOS:**

*Mayra Contreras R.* *Liliana Y-Suarez C.* *[Signature]*

Vo.Bo. Coordinador Comité Curricular

*[Signature]*

## Resumen

El modelo murino de inflamación inducida permitió generar inflamación a nivel sistémico donde la respuesta inmune pudo ser estudiada de manera antígeno específico. El tratamiento favoreció la expansión de células T CD4+ y modulación de respuestas pro-inflamatorias, proponiendo a IL-33 como inhibidor de la inflamación. Por otro lado, generamos Tregs en presencia de AR (AR-Treg) y analizamos su fenotipo y función. El fenotipo se evaluó en términos de expresión de moléculas de superficie, tales como Nrp-1, además de la expresión de factores de transcripción claves como Foxp3, Eos y Helios. Además, se comparó su patrón de citoquinas y la expresión de algunos genes relevantes para la actividad de los Tregs. Nuestros datos indican que la AR afecta a la expresión de Helios, Eos y Areg en iTregs, además, los Tregs generados fueron capaces de suprimir la proliferación de células T, por lo tanto, este trabajo centró su estudio en identificar la contribución en modelos de inflamación sistémica de IL-33 y el ácido retinoico en la generación de células T reguladoras en la respuesta inmune adaptativa con el fin de modular respuestas inmunes y promover la tolerancia en diferentes escenarios médicos interesantes en los trasplantes.

Palabras: claves: Inflamación, IL-33, fenotipo, tolerancia, expresión.

## Summary

The mouse model of systemic inflammation induced inflammation which allowed systemically generate immune responses which could be studied in antigen specific manner was established. The treatment demonstrated expanding CD4 + T cells and modulating pro-inflammatory responses, suggesting to IL-33 as an inhibitor of inflammation. In other hand, we generated iTregs in absence or presence of RA (RA-iTregs) and analyzed their phenotype and function. Tregs phenotype was evaluated in terms of expression of surface molecules, such as Nrp-1, plus the expression of key transcription factors, including Foxp3, Eos and Helios. In addition, we compared their cytokine secretion pattern and the expression of some genes that have been identified as relevant factors for Tregs activity. Our data indicates that RA affects the expression of Helios, Eos and Areg in iTregs, additionally, the generated Tregs was able to suppress the effector T cell proliferation, so this work was focused to identify the contribution of systemic inflammation in models of IL-33 and retinoic acid in the generation of regulatory T cells in the adaptive immune response in order to modulate immune responses and promote tolerance in different medical scenarios interesting in transplants.

Keywords: Inflammation, IL-33, phenotype, tolerance, expression.

## Agradecimientos

Quiero dedicar estas líneas para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda, han contribuido en la realización del presente proyecto de grado, en especial a mi directora, la Dra. Karina Pino Lagos, quien con su valioso apoyo, orientación y supervisión ha contribuido grandemente en el desarrollo de mi formación profesional, ganándose todo mi respeto y admiración.

De manera especial quiero agradecer a quienes me facilitaron el manejo de los animales en experimentación, quienes fueron Macarena Ocaña y Claudia Rubi, por la asistencia técnica y enseñanzas a la hora de saber manejar apropiadamente a los animales. Así mismo, a Alex Cabrera por los conocimientos proporcionados en cuanto a citometría de flujo y *cell sorting*. A mi grupo de laboratorio: Mauro, Claudia y Tania; y al grupo Senior de inmunología quienes siempre estuvieron presentes incondicionalmente.

Un agradecimiento muy especial merece la comprensión, paciencia y ayuda, tanto moral como económica, brindada por mis padres y toda mi familia, así como el aliento recibido por amigos, y la formación transmitida por mi alma mater, UFPS.

Por último, pero no menos importante, quiero agradecer y dedicar este trabajo a Harvey Hernández por su incondicional ayuda, amor y compañía durante todo el proceso.

## Contenido

	Pág.
Introducción	15
1. El problema	16
1.1 Título	16
1.2 Planteamiento del problema	16
1.3 Formulación del problema	18
1.4 Justificación	18
1.5 Objetivos	19
1.5.1 Objetivo general	19
1.5.2 Objetivos específicos	19
1.6 Delimitación	19
1.6.1 Alcances	19
1.6.2 Limitaciones	20
2. Marco Referencial	21
2.1 Antecedentes	21
2.2 Marco teórico	25
2.2.1 Respuesta inmunológica adaptativa	25
2.2.2 Clases de inmunidad adaptativa	26
2.2.2.1 Respuesta humoral	26
2.2.2.2 Respuesta celular	27
2.2.3 Vitamina A	32
2.2.3.1 Metabolismo y mecanismo de acción del ácido retinoico	32



	9
2.2.3.2 Vitamina A y la respuesta inmune adaptativa	34
2.2.4 Interleuquina 33 (IL-33)	36
2.3 Marco legal	37
3. Metodología	39
3.1 Tipo de investigación	39
3.2 Población y muestra	39
3.2.1 Población	39
3.2.2 Muestra	39
3.3 Hipótesis	40
3.4 Variables	40
3.4.1 Variables Dependientes	40
3.4.2 Variables independientes	40
3.4.3 Variables intervinientes	40
3.5 Fases de la investigación	41
3.5.1 Modelo murino de inflamación sistémica	41
3.5.1.1 Screening de los ratones transgénicos	41
3.5.1.2 Inmunización de los ratones	41
3.5.1.3 Obtención de suspensiones celulares	42
3.5.1.4 Citometría de flujo	42
3.5.1.5 Experimento de re-estimulación in vitro	42
3.5.1.6 Test ELISA	43
3.5.2 Generación de células T reguladoras	43
3.5.2.1 Citometría de flujo	44
3.5.2.2 qRT-PCR	44

	10
3.5.2.3 Ensayo de supresión	45
3.5.3 Análisis de datos	46
4. Resultados y discusiones	48
4.1 Modelo in vivo de inmunización sistémica antígeno específico	48
4.2 Efecto de IL-33 en el fenotipo y expansión de células inmunes	49
4.3 Re-estimulación ex vivo: impacto de IL-33 en activación celular	52
4.4 Protocolo de inducción de Tregs	57
4.5 Fenotipo de las células Tregs inducidas	58
4.6 Producción de citoquinas	62
4.7 Ensayo de supresión in-vitro	63
5. Conclusiones	66
6. Recomendaciones	67
Bibliografía	68