

El papel del canal Kv1.3 en el desarrollo de la artritis reumatoide

The role of channel Kv1.3 in the development of rheumatoid arthritis

Mitzi Santoyo-Sánchez,* Alfonso Ríos-Pérez,† Janette Furuzawa-Carballeda,§
Diego Durán-Hernández,† Erica Hernández-Medina,†
Yeraldin Esquivel-Álvarez,§ Rodrigo Balam Muñoz-Soto†

* Departamento de Toxicología, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Distrito Federal, México.

† Departamento de Bioingeniería, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Ciudad de México, Distrito Federal, México.

§ Departamento de Inmunología y Reumatología, Instituto de Ciencias Médicas y Nutrición «Salvador Zubirán».

Dirección para correspondencia:
Dr. en C. Rodrigo Balam Muñoz Soto
Departamento de Bioingeniería,
Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey,
Campus Ciudad de México,
Calle del Puente Núm. 222,
Col. Ejidos de Huipulco, 14380,
Delegación Tlalpan, Ciudad de México.
Tel: (+5255) 5483 2020, ext. 1304
E-mail: rbmuno@itesm.mx

Recibido: 23 de enero de 2015.
Aceptado: 01 de octubre de 2015.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en:
<http://www.medigraphic.com/rid>

Palabras clave:

Artritis reumatoide,
enfermedades autoinmunes,
rutas de señalización,
canal de potasio.

Key words:

Rheumatoid arthritis,
autoimmune disease,
signaling pathway,
potassium channel.

Resumen

La artritis reumatoide es una enfermedad autoinmune caracterizada por un proceso inflamatorio de las articulaciones. La etiología no está del todo definida; sin embargo, diversos factores de riesgo como la genética del individuo, la exposición a infecciones, o bien, desórdenes de tipo inmune pueden estar involucrados. Los mecanismos moleculares y celulares de la enfermedad incluyen el reclutamiento de ciertos tipos celulares, así como la expresión de citocinas proinflamatorias en los tejidos y sus alrededores. Pero también es cierto que algunas otras moléculas podrían tener un papel importante en la patogénesis de la enfermedad. Uno de los recientes candidatos es el canal Kv1.3. Esta proteína regula el flujo de iones potasio y activa rutas de señalización en diversos tipos celulares, incluyendo los linfocitos T. Estas células son elementos clave en el desarrollo de la artritis reumatoide, ya que inducen la síntesis de citocinas proinflamatorias en tejidos afectados. Kv1.3 se expresa altamente en ciertos linfocitos T reguladores relacionados con enfermedades autoinmunes; por ende, se ha sugerido como un blanco potencial para agentes terapéuticos. A la fecha, diversos inhibidores de este canal se han sintetizado, o bien, aislado de diversas fuentes naturales, lo que sugiere una gran cantidad de oportunidades para modular las respuestas inmunes que pueden desencadenarse a través de la señalización de Kv1.3.

Abstract

Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease characterized by an inflammatory process in the joints. The etiology is not well known, but multiple risk factors such as genetics, infections, and immunoregulation disorders may be involved. The cellular and molecular mechanisms include recruitment of certain types of cells and expression of proinflammatory cytokines in the surroundings. However, certain molecules may have an additional role in the development of the pathogenesis. One of these novel markers is the channel Kv1.3; this protein regulates potassium ion fluxes and activates signaling pathways in several cell types, including T-cells. Lymphocytes are key elements in the progression of RA; they induce proinflammatory cytokines in affected tissue. Kv1.3 is highly expressed in regulatory T lymphocytes related to autoimmune diseases; therefore, in recent years, this channel has been suggested as a potential target for therapeutics. Several inhibitors are developed and isolated from natural sources that provide a good approach to modulate pathologic immune responses mediated by T-cells targeting Kv1.3.

Enfermedades autoinmunes: artritis reumatoide

Las enfermedades autoinmunes se consideran desórdenes en los cuales el sistema inmune de los individuos desarrolla alguna reacción en contra de moléculas y/o tejidos del propio organismo. Algunos de estos padecimientos incluyen la esclerosis múltiple, la diabetes tipo 1, el vitíligo y la artritis reumatoide.¹ Hasta la fecha se han identificado entre 80 y 100 diferentes afecciones de origen autoinmune, y al menos 40 más cuya base también es tipo autoinmunitaria. Todas estas enfermedades son crónicas y disminuyen la calidad de vida de los pacientes. En Estados Unidos, la Asociación Americana de Enfermedades Autoinmunes (AARDA, por sus siglas en inglés) señala que la prevalencia de estos padecimientos ronda los 50 millones de individuos, siendo una de las 10 causas principales de muerte en mujeres y niñas en dicho país.²

De todas las afecciones autoinmunes, la artritis reumatoide (AR) es una de las más comunes y difíciles de controlar. Su prevalencia es mayor en el sexo femenino (3:1 en relación con la incidencia en hombres) y en edades de 35 a 50 años (aunque puede aparecer a cualquier edad). Se trata de una enfermedad crónica e inflamatoria que afecta las articulaciones. Entre los síntomas principales está el dolor, rigidez e inflamación de dichas articulaciones. Eventualmente, puede surgir una destrucción del cartílago y hueso, así como deformidades que resultan en pérdida de funcionalidad. En México, se estima que el 1.6% de los adultos es afectado por artritis reumatoide, e incide en los sectores con mayor carga laboral y capacidad productiva.³ Aunque la etiología de este padecimiento es desconocida, se sabe que existen factores de tipo infeccioso, genético e inmunorreguladores asociados con la frecuencia en la población.⁴

El diagnóstico y tratamiento oportuno de la artritis reumatoide permiten al paciente mejorar su calidad de vida y limitar el avance de la enfermedad. Aunque hasta el momento no existe algún tratamiento efectivo para curar el padecimiento, diversas combinaciones de fármacos y el desarrollo de moléculas cada vez más específicas pueden ser el camino a seguir en la construcción de una ruta terapéutica. A nivel genético, diversos estudios demuestran asociaciones importantes con mutaciones y polimorfismos en distintos *locus*, que incluyen el HLA. El *locus* HLA (del inglés *human leucocyte antigen*) codifica para moléculas altamente polimórficas que permiten ofrecer un repertorio de posibilidades para la unión de péptidos. En la AR, la asociación más común es con los genes HLA-DRB1,

en particular con el alelo HLA-DR4.⁵ La presencia de DR-4 en individuos caucásicos de ascendencia nórdica resultó en una correlación de entre un medio y dos tercios en sujetos con AR.⁶ Otros polimorfismos relacionados con el riesgo de desarrollo de este padecimiento incluyen el antígeno 4 de linfocitos citotóxicos (CTLA-4). Esta proteína se expresa predominantemente en linfocitos T reguladores, los cuales juegan un papel preponderante en la activación de estas células T. El polimorfismo A49G del CTL4 tiene una asociación con la susceptibilidad al desarrollo de la AR, independientemente del origen étnico.⁷ La subunidad α de la integrina también ha sido analizada. A nivel del polimorfismo ITGAV rs3911238-C/C incrementa la severidad de la enfermedad.⁸ Todos estos estudios sugieren que el componente genético tiene una participación fundamental, pero también resulta de vital importancia conocer el proceso a través del cual se genera esta afección.

Mecanismo molecular en el desarrollo de la artritis

Hasta la fecha, se sabe que diversas células participan en la inducción del proceso inflamatorio en las articulaciones, particularmente los macrófagos y los linfocitos T colaboradores 17 (Th17).¹ Las articulaciones son infiltradas, además, por células CD4+ y linfocitos B, lo que resulta en un engrosamiento sinovial; en etapas crónicas, se forma una estructura denominada *pannus*. Ésta puede llegar a invadir estructuras de cartílago y óseas, comprometiendo de manera importante la función y generando una destrucción progresiva de las articulaciones.⁹

Existe evidencia adicional sobre el papel de las citocinas proinflamatorias como mecanismos detonadores de señalización a nivel celular que favorecen la progresión de la enfermedad.¹⁰ La inducción de las respuestas por las células T en la AR se inicia a través de la interacción del receptor de células T (TCR) con un epítipo compartido del complejo principal de histocompatibilidad clase II (MHCII-SE) sobre una célula presentadora de antígeno (APC), tanto de forma sistémica como localmente en el sinovio. Las moléculas accesorias expresadas por las APC, tales como ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*) (CD54), OX40L (CD252), el ligando inducible coestimulador (ICOS) (CD275), B7-1 (CD80), y B7-2 (CD86), participan de manera conjunta en la activación de las células T a través de la interacción respectiva con las moléculas (LFA)-1 (CD11a/CD18), OX40 (CD134), ICOS (CD278) y CD28. Por otra parte, los sinovio-

citos activados pueden participar en la presentación de antígeno mediante la interacción de moléculas accesorias adicionales, tales como LFA-3 (CD58) y ALCAM (CD166), las cuales se unen a los marcadores CD2 y CD6, respectivamente.¹¹ Adicionalmente, las citocinas derivadas de las APC, como la interleucina 6 y el factor de crecimiento transformante-beta (TGF- β), promueven la diferenciación de las células T en células Th17 productoras de IL1-7.¹² Esta citocina posee efectos independientes y de sinergia con otras citocinas proinflamatorias como TNF-alfa e IL-1 β dentro del sinovio, que resultan en mayor liberación de citocinas, producción de metaloproteinasas, expresión del ligando RANK/RANK (CD265/CD254) y el inicio de la osteoclastogénesis. La interacción de CD40L (CD154) con CD40 resulta en la activación de monocitos y macrófagos sinoviales, así como de linfocitos B. Aunque las células T reguladoras se han encontrado en pacientes con AR, éstas parecen inefectivas en controlar la inflamación y pueden ser desactivadas por la presencia del TNF- α sinovial. Aunque la citocina IL-10 es abundante en el fluido sinovial, su efecto en la regulación de las Th17 aún no ha sido del todo establecido. Las células componentes de la membrana sinovial en el tejido inflamado durante el desarrollo de la artritis pueden tener respuestas inmunitarias innatas y adaptativas mediadas por citocinas. La activación de células dendríticas, los linfocitos T, linfocitos B y macrófagos por la acción de citocinas resulta en la activación de células efectoras tales como neutrófilos, células cebadas, células endoteliales y fibroblastos sinoviales. En primera instancia, las células dendríticas mieloides y plasmocíticas pueden estimular a los linfocitos T colaboradores a diferenciarse hacia linfocitos Th17. Pero también estimulan la producción de anticuerpos autoinmunes en linfocitos B. La señalización a nivel molecular, como se muestra, involucra múltiples blancos y rutas; sin embargo, en recientes estudios, el papel de los canales iónicos en estos procesos ha tomado relevancia, principalmente los relacionados con el flujo de calcio y potasio.

El canal Kv1.3

Los canales de potasio dependientes de voltaje (Kv) son parte de una familia de proteínas de membrana diversas y ubicuas codificadas por más de 75 genes diferentes. Estos canales son moléculas tetraméricas con seis segmentos transmembrana-helicoidal putativos (TM) unidos por un bucle extra- e intracelular: el quinto y sexto TM (S5-S6) y el bucle conector extracelular alinean la región del poro y compensan el poro

conductor, mientras que se cree que lo que hacen los primeros cuatro (S1-S4) TM es andamiar la puerta de activación de estos canales.¹³ La familia Kv está subdividida en 12 grupos que comprenden de Kv1 hasta Kv12; éstos se ven implicados en la regulación del potencial de membrana al controlar la tasa de salida de potasio de la célula, por lo que pueden modular un gran número de procesos celulares. Además, juegan un papel importante en una gran variedad de funciones fisiológicas dentro de las cuales se encuentran el mantenimiento del tono del músculo liso vascular, el crecimiento celular, la regulación del volumen celular, adhesión, movilidad, transporte epitelial, homeostasis, liberación de insulina, apoptosis y activación de células T.¹⁴ Debido a que la activación y proliferación de las células T depende de un flujo entrante sostenido de calcio para una eficiente señalización de transducción y transcripción de genes, el canal Kv1.3 contribuye con el control de la señalización al proveer una fuerza eléctrica impulsora para la entrada de Ca²⁺. Hay distintos subconjuntos de células T CD8+: *naïve*, de memoria central (TCM) y de memoria efectora (TEM); éstos muestran expresión diferencial de los canales Kv1.3 dependiendo de su estado de activación y diferenciación.¹⁵

La familia Kv1 consiste de al menos seis genes (Kv1.1, Kv1.2, Kv1.3, Kv1.4, Kv1.5 and Kv1.6); cada uno juega un papel fisiológico distinto.¹⁶ Kv1.3 pertenece a la familia *Shaker* (Kv1) de los canales de potasio, que participa en la diferenciación de tejidos y en el crecimiento celular, así como en la señalización por calcio en las células T efectoras de memoria en humanos; además, presenta una alta tasa de expresión en linfocitos, CNS, riñones, hígado, músculo esquelético, testículos, espermatozoides y osteoclastos.¹⁷ Este canal presenta una alta tasa de expresión en los linfocitos y en el bulbo olfatorio; sin embargo, estudios han reportado que se expresa igualmente en el hipocampo, epitelio, tejido adiposo y el músculo liso y esquelético.¹⁸ El canal funcional en linfocitos T en humanos (*Figura 1*) está compuesto por cuatro subunidades idénticas de Kv1.3¹⁹ no unidas covalentemente con cerca de 500 aminoácidos. Cada subunidad contiene seis alfa-hélices conectadas por asas intra- y extracelulares. Las alfa-hélices S3 y S4 funcionan como sensores de voltaje y regulan la apertura del canal. El asa extracelular entre el quinto y sexto segmento transmembranal, junto con los segmentos de la hélice S6, forma el poro a través del cual los iones de potasio cruzan la membrana. Así mismo, esta región sirve de receptor para inhibidores.²⁰ En comparación con otros canales iónicos, Kv1.3 es sensible a muchos agentes

farmacológicos, incluyendo pequeños compuestos orgánicos y muchas toxinas peptídicas.²¹ La actividad del canal es controlada de una manera compleja, no sólo por cambios en el potencial de membrana, sino también por la fosforilación de treonina, serina y tirosina. La serotonina y la insulina pueden regular a la baja la actividad del canal Kv1.3. En el caso de la insulina, la inhibición del canal se ha observado en el bulbo olfatorio y es mediada por la fosforilación de múltiples residuos de tirosina en Kv1.3. La actividad del canal Kv1.3 es inhibida por la fosforilación de tirosina, tanto *in vitro* como *in vivo*.¹⁴ Por otro lado, la

actividad del canal está regulada al alza por la quinaasa de suero de glucocorticoides activado, uno de los principales mediadores de la acción de la aldosterona en el túbulo renal distal. Es así que la proteína quinaasa C incrementa y la tirosina quinaasa inhibe la actividad del canal Kv1.3. El canal Kv1.3 está relacionado con enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple, diabetes mellitus de tipo I, dermatitis alérgica de contacto, resorción ósea debido a la periodontitis e hipersensibilidad de tipo retardado. Algunos estudios señalan que también el Kv1.3 puede ser él mismo un sustrato para receptores de insulina, y su actividad

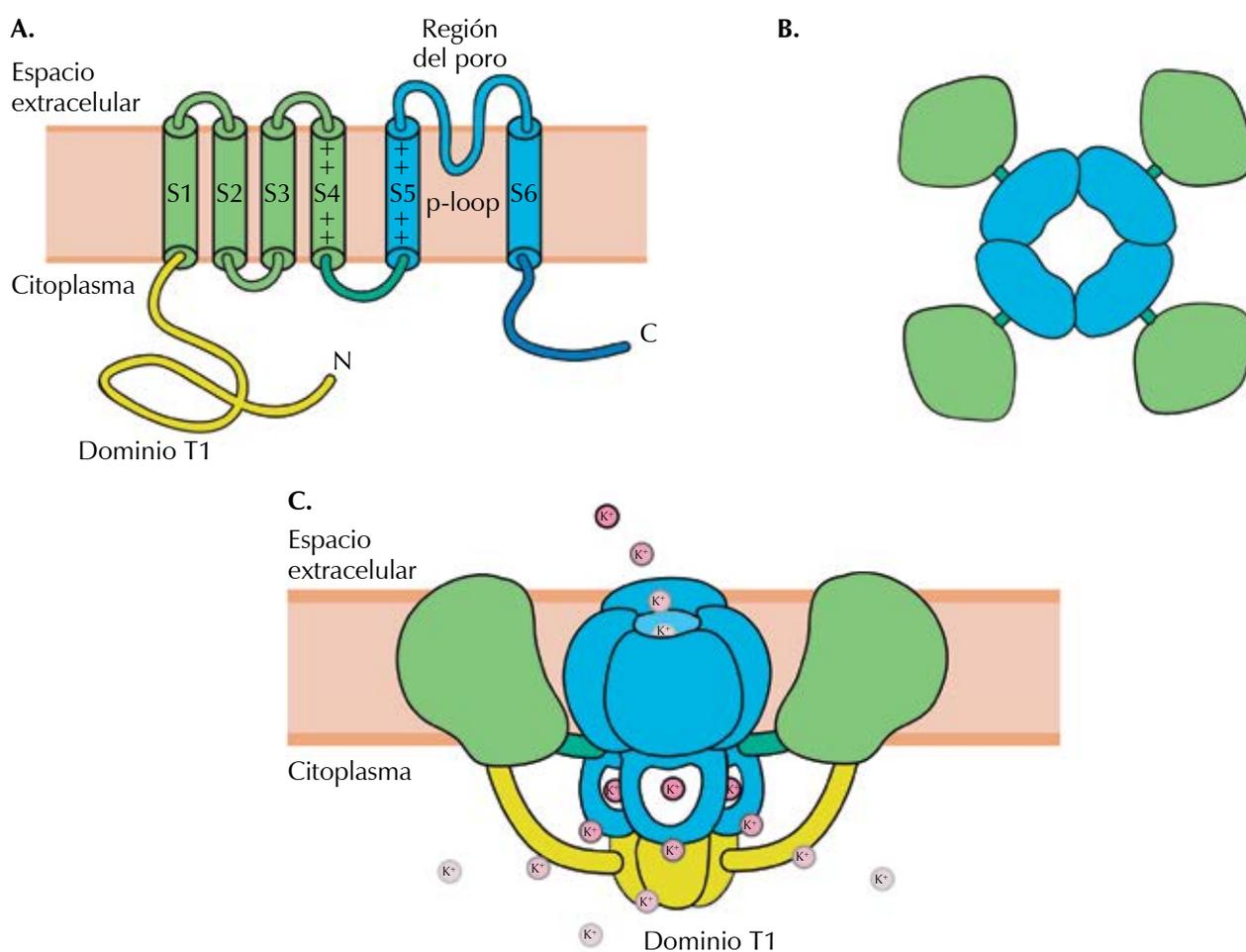


Figura 1. A. Dominios transmembranales del canal Kv1.3. Se muestran las seis alfa hélices transmembranales S1 a S6 de cada subunidad del canal Kv1.3. El giro extracelular entre S5 y S6 genera el espacio de poro por donde serán transportados los iones de potasio. Se observa el dominio citosólico T1 localizado en el extremo N-terminal. B. Vista superior del canal Kv1.3. Se presenta la estructura tetramérica del canal. S1, S2, S3 y S4 aparecen en color verde. Las alfa hélices S5 y S6, encargadas de la formación del poro, se indican en azul. C. Vista lateral del canal Kv1.3. Se muestra la estructura tetramérica del canal y la formación de los poros que permiten el transporte de iones de potasio desde el citosol y hacia el exterior de la célula.

es modulada mediante fosforilación. En este sentido, Kv1.3 se convierte en un componente clave para la regulación del peso, el gasto de energía y la homeostasis de glucosa. Este efecto ha sido observado en ratones obesos y diabéticos, lo cual sugiere que este canal incrementa la sensibilidad a la insulina.¹⁷

Señalización del canal Kv1.3

La activación de linfocitos T es regulada por una vía de señalización dependiente de Ca^{+2} .^{22,23} Una vez que el antígeno de la célula presentadora de antígeno y el receptor del linfocito T (TCR) entran en contacto, se activa la fosfolipasa C γ (PLC γ) a través de una tirosin-cinasa acoplada al receptor. La PLC γ activa hidroliza el fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP₂) membranar en diacilglicerol (Dag) e inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃), que es liberado al citosol. A su vez, IP₃ libera iones de Ca^{+2} almacenados en el retículo endoplásmico a través de la familia de canales IP₃R, dependientes de IP₃. Los iones de Ca^{+2} liberados al citoplasma forman un ciclo de retroalimentación positiva²⁴ donde los propios iones activan más canales de Ca^{+2} del retículo endoplásmico, lo que aumenta su concentración citosólica (*Figura 2*). Además, estos iones de Ca^{+2} liberados del retículo endoplásmico activan a los canales SOC (*store-operated channels*), que son canales iónicos de la membrana plasmática dependientes de Ca^{+2} intracelular (cuyo origen es el retículo endoplásmico).

El canal CRAC (*calcium release-activated channel*) es el principal SOC involucrado en la activación de los linfocitos T. Este canal es activado por los iones Ca^{+2} liberados al citoplasma por el retículo endoplásmico y permite la entrada de aún más iones de Ca^{+2} del espacio extracelular. Sin embargo, el aumento del Ca^{+2} citosólico produce una despolarización de la membrana plasmática, lo cual reduciría el flujo de iones Ca^{+2} a través de CRAC a no ser por la presencia de canales de K^+ en la sinapsis inmunológica.²⁵

La acumulación de canales Kv1.3 en la sinapsis inmunológica fue descubierta por Panyi y colaboradores al observar la colocalización del canal durante el proceso de interacción entre linfocitos T citotóxicos y una célula blanco.²⁴ A partir de dicho hallazgo, existían dos posibilidades para la acumulación de los canales Kv1.3 en la sinapsis inmunológica: en primera instancia, la asociación del canal a balsas lipídicas, o bien, la presencia de interacciones proteína-proteína. En apoyo a la segunda hipótesis, se ha determinado que la proteína PSD-95 (*post-synaptic density protein 95*) poseía un dominio de unión al extremo C terminal del canal Kv1.3 y que ésta era la

proteína encargada de acumular a este canal en la sinapsis inmunológica.²⁶

La actividad de los canales en las células permite un flujo de diversos iones entre ambos lados de la membrana. Cuando ésta se encuentra polarizada con una carga neta negativa en su cara citoplásmica debido a un aumento en la concentración de iones Ca^{+2} en el citoplasma, se contrarresta esta carga negativa y se produce una despolarización de la membrana. Este cambio en el voltaje activa a los canales de K^+ dependientes de voltaje Kv1.3 que bombean iones de K^+ al exterior de la célula, lo que hiperpolariza la membrana (causa una alta carga negativa al interior de la célula). Esta hiperpolarización de la membrana es la fuerza impulsora de la incorporación de aun más iones Ca^{+2} del espacio extracelular a través de CRAC.²⁷

Kv1.3 no es el único canal de K^+ presente en la sinapsis inmunológica; también se encuentra IKCa1, un canal de K^+ dependiente de Ca^{+2} ,²⁸ sin embargo, sólo el bloqueo de Kv1.3 es capaz de detener la activación de los linfocitos T, a diferencia de IKCa1, cuya inhibición no es suficiente para detener dicho proceso. La duración necesaria del estímulo del antígeno para producir la puesta en funcionamiento del linfocito T oscila entre 30 y 60 minutos. Esto se debe a que es el tiempo que se ha de mantener la concentración de Ca^{+2} citosólico elevada para activar el factor nuclear de linfocitos T activados (NF-AT). De este modo, la puesta en funcionamiento de NF-AT es el paso que compromete al linfocito T a su activación. La *figura 2* esquematiza toda la vía de señalización de activación de los linfocitos T.

La liberación de Ca^{+2} al citoplasma a través de IP₃ tiene una duración de alrededor de 10 minutos, lo cual no permitiría la activación de NF-AT a menos que se produjera el segundo influjo de Ca^{+2} a través de CRAC, el cual es dependiente de Kv1.3.

Los canales Kv1.3 controlan la homeostasis del calcio en las células T y se localizan en la sinapsis inmunológica para la presentación de antígeno.²⁹ En otros tejidos como la microglía, Kv1.3 se expresa y al parecer actúa como un modulador de neurotoxicidad, ya que participa en la inducción de citocinas, quimioquinas, NO y especies reactivas de oxígeno.

El canal Kv1.3 como blanco terapéutico en la artritis reumatoide

Debido al rol regulador que posee Kv1.3 en diversos procesos, la búsqueda de moléculas que inhiban la activación de este canal es constante. En este sentido, a partir de diversas fuentes naturales se han aislado potentes inhibidores de dicha proteína.

El atractivo por Kv1.3 como blanco terapéutico se debió al descubrimiento de bloqueadores de Kv1.3 que suprimían de modo preferencial la autorreactividad de las células CRR7- T_{EM} que surgen como consecuencia de una estimulación autoantígena durante el desarrollo de la enfermedad; por lo tanto, el canal Kv1.3 muestra una mayor especificidad a este tipo de células. Al encontrar estas moléculas bloqueadoras, se tendría

una ventaja sobre las terapias inmunomodulatorias actuales debido a que las células *naïve* y TCM de larga vida podrían escapar de la inhibición, mientras que las células T_{EM} serían el blanco.³⁰ Los bloqueadores de Kv1.3 resultarían potenciales terapéuticos para el tratamiento de enfermedades autoinmunes mediadas por las células T_{EM} (células de memoria efectora), tal y como lo es la artritis reumatoide.

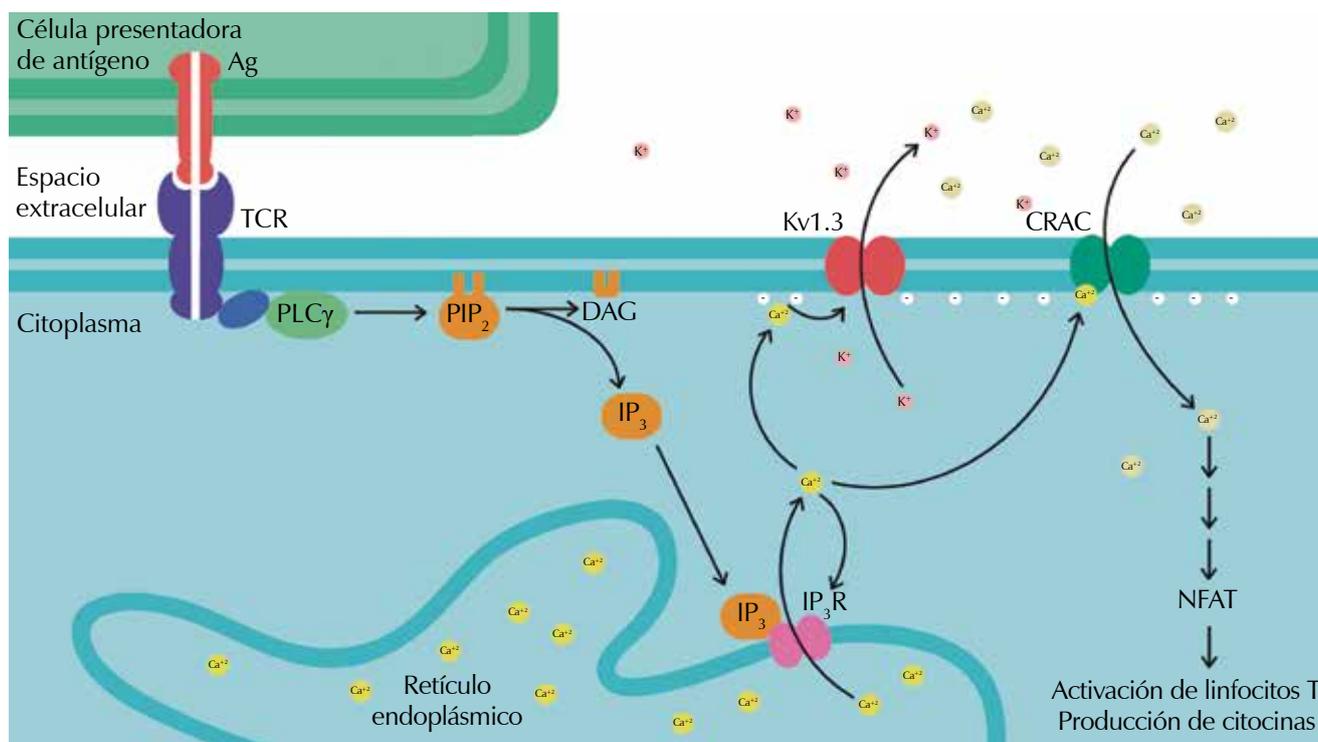


Figura 2. La interacción entre un antígeno unido al complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de una célula presentadora de antígeno (APC) y el receptor de célula T del linfocito (TCR), aunada a la interacción de moléculas accesorias activa una cascada de señalización en donde se implica de manera importante el intercambio de iones a través de canales transmembranales que involucran el movimiento de calcio y potasio a través de los canales CRAC y Kv1.3, respectivamente. De manera inicial, la interacción activa a la fosfolipasa C para escindir el fosfatidilinositol bifosfato en diacilglicerol e inositol trifosfato, el cual activa la salida de los reservorios de calcio intracelulares al citoplasma. El canal dependiente de potasio Kv1.3 facilita la señalización de calcio durante la activación de células T. La presentación de antígenos en un complejo de moléculas mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II al complejo receptor-CD3 de la célula T activa la fosfolipasa C (PLC-g), que produce inositol-1,4,5-trifosfato (IP3). IP3 se une al receptor de IP3 (IP3R) en la membrana del retículo endoplásmico (ER), el cual se abre para liberar el Ca^{2+} almacenado. Cuando la mano EF, que contiene la molécula de interacción del estroma 1 (STIM1), situado en la membrana del RE, detecta el agotamiento del Ca^{2+} interno, activa los canales CRAC (la liberación de Ca^{2+} activa Ca^{2+}), ubicados en la membrana plasmática, para permitir la entrada de Ca^{2+} extracelular, la cual despolariza la membrana celular y aumenta la concentración de Ca^{2+} citosólico. Es entonces cuando los canales Kv1.3 se abren en respuesta a la despolarización de la membrana y mantienen la fuerza impulsora para la entrada de Ca^{2+} a través de los canales CRAC. Por último, el aumento de Ca^{2+} citosólico activa la calcineurina fosfatasa, que conduce a la desfosforilación del factor nuclear factor de transcripción de células T activadas (NFAT), lo que permite su translocación en el núcleo y la transcripción de genes promotores de la proliferación de linfocitos y la diferenciación.

Los estudios funcionales sobre estos canales han demostrado que diversas moléculas clásicas que sirven como bloqueadores tradicionales de canales de potasio, tales como la 4-aminopiridina o la quinina, pueden inhibir al Kv1.3. Así mismo, los antagonistas de canales de calcio como nifedipina o verapamil, los cationes polivalentes y la progesterona también inhiben a este canal. Estos agentes no son muy específicos y su potencia se encuentra en los rangos micro- o milimolares. En recientes años, ciertos inhibidores peptídicos provenientes de toxinas han sido utilizados para entender el papel funcional de Kv1.3 debido a su alta especificidad. Sin embargo, un punto fundamental para el desarrollo de una terapia efectiva es el balance entre seguridad y eficacia. A pesar de que Kv1.3 puede ser un blanco terapéutico importante en la modulación de las respuestas inmunopatogénicas mediadas por las células T, este canal también se encuentra presente en otros lugares como el sistema nervioso central, hígado, músculo esquelético, riñón, macrófagos, plaquetas y osteoclastos, lo cual puede resultar en que los inhibidores tuviesen efectos secundarios.³⁰ El resveratrol es un agente anticancerígeno presente en el fruto de la vid ampliamente conocido por sus propiedades como antioxidante al disminuir

la peroxidación de lípidos, alteración de la síntesis de eicosanoides y disminución de radicales libres. El resveratrol en concentraciones micromolares es capaz de modular el potencial de diversos canales iónicos, incluyendo el Kv1.3.³¹ En linfocitos, el tratamiento con resveratrol ha resultado en una disminución dosis y tiempo dependiente del canal Kv1.3. También se ha observado que la genisteína, un inhibidor de las tirosina cinasas, tiene un efecto de inhibición sobre Kv1.3.³² El *cuadro 1* enlista numerosos compuestos de distinta naturaleza que inhiben al canal Kv1.3 y han sido considerados como candidatos terapéuticos para el tratamiento de la AR y otras enfermedades autoinmunes.

La búsqueda de inhibidores de Kv1.3 es constante en varios ámbitos de la farmacología, sobre todo en el tratamiento de desórdenes del sistema inmune. Dentro de estos bloqueadores se han considerado inhibidores peptídicos que tienen como blanco a los canales Kv1.3; los escorpiones, serpientes y anémonas marinas, entre otros, son una fuente rica en ellos. Algunas especies como la anémona marina *Stichodactyla helianthus* han servido como fuente para aislar un potente bloqueador del canal de potasio Kv1.3 denominado ShK, el cual es un péptido de 35 aminoácidos con un peso mole-

Cuadro 1. Compuestos inhibidores del canal Kv1.3.

Nombre del compuesto	Tipo de compuesto	IC ₅₀	Referencias
Rosiglitazona	Tiazolidinediona	18.6 ± 1.5 µM	37
Troglitazona	Tiazolidinediona	3.5 ± 0.6 µM	37
Resveratrol	Fitoalexina	40.9 ± 5.0 µM	31
TRAM-34	Derivado del clotrimazol	5 µM	38
[5-(4-fenoxibutoxi) psoraleno] (PAP-1)	Psoraleno	2 nM	38
[Nafto (1,2-d) tiazol-2-ylamina] (SKA-31)	Benzotiazol	> 25 µM	38
Compuesto CP-339818 (Pfizer)	Dihidroquinolina	200 nM	39
Compuesto UK-78282 (Pfizer)	Piperidina	200 nM	39
Correolide	Triterpeno pentacíclico	90 nM	39
5-metoxipsoralen (5-MOP)	Psoraleno	100 µM	40
Psora-4	Psoraleno	3 nM	41
PAP-1	Psoraleno	2 nM	42
Khellinona	Dimetoxi benzofurano	45 µM	43
Otros derivados de la khellinona	Derivados de la khellinona	280-480 nM	43,44
trans-N-propil-carbamoil oxi PAC	Benzamida y derivados	50 nM	45
Clofazimina	Colorante riminofenazínico	300 nM	46

Cuadro II. Toxinas peptídicas inhibitoras del canal Kv1.3.

Nombre del compuesto	Especie de origen	IC ₅₀	Referencias
Stichodactyla toxina (ShK)	<i>Stichodactyla helianthus</i>	11 pM	33
Charybdotoxina (ChTX)	<i>Leiurus quinquestriatus hebraeus</i>	3 nM	28
Noxiustoxina (NxTX)	<i>Centruroides noxius</i>	8 nM	28
ShK-L5	<i>Stichodactyla helianthus</i>	69 pM	47
OSK1	<i>Orthochirus scrobiculosus</i>	14 pM	48
Margatoxina	<i>Centruroides margaritatus</i>	2 nM	49
Nistatina	<i>Streptomyces noursei</i>	3 nM	50
Anfotericina B	<i>Streptomyces nodosus</i>	60 nM	50
Toxina de escorpión (ADWX-1) (análogo de BmKTx)	Análogo sintético, (BmKTx de <i>Buthus Martensi</i>)	1.89 pM	21
Vm24	<i>Vaejovis mexicanus</i>	3 pM	35

cular de 4055 Da; al clonar estos canales en células de mamífero, diversos estudios de tipo *patch-clamp* han demostrado una constante de inhibición (IC_{50s}) de 11 pM para el canal Kv1.3.³³ Otro ejemplo es la toxina HsTX1 proveniente del escorpión *Heterometrus spinifer*, un péptido de 34 residuos que actúa como un bloqueador potente de los canales de potasio; el HsTX1 es un bloqueador del canal Kv1.3 más potente y específico que la maurotoxina.³⁴

El *cuadro II* enlista toxinas peptídicas de distintas especies que sirven como inhibidores del Kv1.3 y podrían ser potenciales compuestos terapéuticos contra la AR. Recientemente, un péptido derivado del veneno del escorpión *Vaejovis mexicanus*, denominado Vm24, ha sido caracterizado como un potente bloqueador del canal con una constante de inhibición del orden de 3 pM³⁵ y capacidad de modular la actividad de linfocitos T y reducir procesos inflamatorios.³⁶

Conclusiones

La artritis reumatoide es una enfermedad multifactorial que involucra la desregulación de mecanismos a nivel celular y molecular. Es una enfermedad progresiva que disminuye la calidad de vida del paciente. Debido al creciente número de individuos en etapas de envejecimiento, el tratamiento puede resultar un problema económico a largo plazo. Por ende, la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos permitirá desarrollar nuevos fármacos con mayor especificidad. En la presente revisión, se analizó el papel de una proteína membranal con una función importante a nivel celular,

el canal de potasio Kv1.3. Este canal está presente en varios tipos celulares y tejidos, y en linfocitos regula la señalización que promueve la proliferación, diferenciación y producción de citocinas proinflamatorias. Esta actividad contribuye de manera importante al proceso inflamatorio y de reclutamiento de células como macrófagos y neutrófilos que promueven la degradación del tejido sinovial. Por ende, el bloqueo de este canal y la inhibición del mismo pueden ser alternativas terapéuticas de control, y probablemente prevención, frente al proceso inflamatorio y de daño crónico de las enfermedades autoinmunitarias tales como la artritis.

Bibliografía

1. Fishman P, Bar-Yehuda S. Rheumatoid arthritis: history, molecular mechanisms and therapeutic applications. In: Borea PA, editor. A3 adenosine receptors from cell biology to pharmacology and therapeutics. Netherlands: Springer; 2010. pp. 291-298.
2. AARDA. Autoimmune Statistics. 2014 [cited 29-09-2014]. Available from: <http://www.aarda.org/autoimmune-information/autoimmune-statistics/>.
3. Cardiel MH, Díaz-Borjón A, Vázquez del Mercado Espinosa M, Gámez-Nava JI, Barile Fabris LA, Pacheco Tena C et al. Update of the Mexican College of Rheumatology guidelines for the pharmacologic treatment of rheumatoid arthritis. *Reumatol Clin*. 2014; 10 (4): 227-240.
4. Mendoza-Vázquez G, Rocha-Muñoz AD, Guerra-Soto A, Ramírez-Villafañá M, González-Sánchez AG, Gámez-Nava JI et al. Artritis reumatoide y dislipidemias. *El Residente*. 2013; 8 (1): 12-22.
5. Scally SW, Petersen J, Law SC, Dudek NL, Nel HJ, Loh KL et al. A molecular basis for the association of the

- HLA-DRB1 locus, citrullination, and rheumatoid arthritis. *J Exp Med*. 2013; 210 (12): 2569-2582.
6. Winchester R. Genetic determination of susceptibility and severity in rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med*. 1992; 117 (10): 869-871.
 7. Li G, Shi F, Liu J, Li Y. The effect of CTLA-4 A49G polymorphism on rheumatoid arthritis risk: a meta-analysis. *Diagn Pathol*. 2014; 9: 157.
 8. Shakiba E, Tavilani H, Goodarzi MT, Kiani A, Pourmotabbed T, Vaisi-Raygani A. The ITGAV-rs3911238 polymorphism is associated with disease activity in rheumatoid arthritis. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2014; 13 (5): 356-363.
 9. Okamoto H, Hoshi D, Kiire A, Yamanaka H, Kamatani N. Molecular targets of rheumatoid arthritis. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2008; 7 (1): 53-66.
 10. Malemud CJ. Intracellular signaling pathways in rheumatoid arthritis. *J Clin Cell Immunol*. 2013; 4: 160.
 11. McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol*. 2007; 7 (6): 429-442.
 12. Roeleveld DM, Koenders MI. The role of the Th17 cytokines IL-17 and IL-22 in rheumatoid arthritis pathogenesis and developments in cytokine immunotherapy. *Cytokine*. 2015; 74 (1): 101-107.
 13. MacKinnon R. Determination of the subunit stoichiometry of a voltage-activated potassium channel. *Nature*. 1991; 350 (6315): 232-235.
 14. Li Y, Wang P, Xu J, Desir GV. Voltage-gated potassium channel Kv1.3 regulates GLUT4 trafficking to the plasma membrane via a Ca²⁺-dependent mechanism. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006; 290 (2): C345-C351.
 15. Hu L, Wang T, Gocke AR, Nath A, Zhang H, Margolick JB et al. Blockade of Kv1.3 potassium channels inhibits differentiation and granzyme B secretion of human CD8⁺ T effector memory lymphocytes. *PLoS One*. 2013; 8 (1): e54267.
 16. Levitan ES, Takimoto K. Surface expression of Kv1 voltage-gated K⁺ channels is governed by a C-terminal motif. *Trends Cardiovasc Med*. 2000; 10 (7): 317-320.
 17. Xu J, Wang P, Li Y, Li G, Kaczmarek LK, Wu Y et al. The voltage-gated potassium channel Kv1.3 regulates peripheral insulin sensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101 (9): 3112-3117.
 18. Comes N, Bielanska J, Vallejo-Gracia A, Serrano-Albarras A, Marruecos L, Gomez D et al. The voltage-dependent K(+) channels Kv1.3 and Kv1.5 in human cancer. *Front Physiol*. 2013; 4: 283.
 19. Airmid. Kv1.3 Potassium Channel. 2014. Available from: <http://www.airmid.com/kv-potassium-channel.html>.
 20. Panyi G, Varga Z, Gaspar R. Ion channels and lymphocyte activation. *Immunol Lett*. 2004; 92 (1-2): 55-66.
 21. Hou P, Zhang R, Liu Y, Feng J, Wang W, Wu Y et al. Physiological role of Kv1.3 channel in T lymphocyte cell investigated quantitatively by kinetic modeling. *PLoS One*. 2014; 9 (3): e89975.
 22. Imboden JB, Weiss A. The T-cell antigen receptor regulates sustained increases in cytoplasmic free Ca²⁺ through extracellular Ca²⁺ influx and ongoing intracellular Ca²⁺ mobilization. *Biochem J*. 1987; 247 (3): 695-700.
 23. Weiss A, Imboden J, Hardy K, Stobo J. The role of the antigen receptor/T3 complex in T-cell activation. *Adv Exp Med Biol*. 1987; 213: 45-49.
 24. Panyi G, Vamosi G, Bacso Z, Bagdany M, Bodnar A, Varga Z et al. Kv1.3 potassium channels are localized in the immunological synapse formed between cytotoxic and target cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101 (5): 1285-1290.
 25. Panyi G, Bagdany M, Bodnar A, Vamosi G, Szentesi G, Jenei A et al. Colocalization and nonrandom distribution of Kv1.3 potassium channels and CD3 molecules in the plasma membrane of human T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100 (5): 2592-2597.
 26. Szilagy O, Boratko A, Panyi G, Hajdu P. The role of PSD-95 in the rearrangement of Kv1.3 channels to the immunological synapse. *Pflugers Arch*. 2013; 465 (9): 1341-1353.
 27. Lewis RS. Calcium signaling mechanisms in T lymphocytes. *Annu Rev Immunol*. 2001; 19: 497-521.
 28. Lin CS, Boltz RC, Blake JT, Nguyen M, Talento A, Fischer PA et al. Voltage-gated potassium channels regulate calcium-dependent pathways involved in human T lymphocyte activation. *J Exp Med*. 1993; 177 (3): 637-645.
 29. Nicolaou SA, Neumeier L, Steckly A, Kucher V, Takimoto K, Conforti L. Localization of Kv1.3 channels in the immunological synapse modulates the calcium response to antigen stimulation in T lymphocytes. *J Immunol*. 2009; 183 (10): 6296-6302.
 30. Beeton C, Wulff H, Standifer NE, Azam P, Mullen KM, Pennington MW et al. Kv1.3 channels are a therapeutic target for T cell-mediated autoimmune diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103 (46): 17414-17419.
 31. Teisseyre A, Michalak K. Inhibition of the activity of human lymphocyte Kv1.3 potassium channels by resveratrol. *J Membr Biol*. 2006; 214 (3): 123-129.
 32. Teisseyre A, Michalak K. Genistein inhibits the activity of kv1.3 potassium channels in human T lymphocytes. *J Membr Biol*. 2005; 205 (2): 71-79.
 33. Beeton C, Pennington MW, Norton RS. Analogs of the sea anemone potassium channel blocker ShK for the treatment of autoimmune diseases. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2011; 10 (5): 313-321.
 34. Rashid MH, Huq R, Tanner MR, Chhabra S, Khoo KK, Estrada R et al. A potent and Kv1.3-selective analogue of the scorpion toxin HsTX1 as a potential therapeutic for autoimmune diseases. *Sci Rep*. 2014; 4: 4509.
 35. Gurrola GB, Hernández-López RA, Rodríguez de la Vega RC, Varga Z, Batista CV, Salas-Castillo SP et al. Structure, function, and chemical synthesis of *Vaejovis mexicanus* peptide 24: a novel potent blocker of Kv1.3 potassium channels of human T lymphocytes. *Biochemistry*. 2012; 51 (19): 4049-4061.
 36. Varga Z, Gurrola-Briones G, Papp F, Rodríguez de la Vega RC, Pedraza-Alva G, Tajhya RB et al. Vm24, a

- natural immunosuppressive peptide, potently and selectively blocks Kv1.3 potassium channels of human T cells. *Mol Pharmacol*. 2012; 82 (3): 372-382.
37. Ahn H, Kim S, Jang HJ, Kim MJ, Rhie DJ, Yoon SH et al. Open channel block of Kv1.3 by rosiglitazone and troglitazone: Kv1.3 as the pharmacological target for rosiglitazone. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol*. 2007; 374 (4): 305-309.
 38. Bradding P, Wulff H. The K⁺ channels KCa3.1 and Kv1.3 as novel targets for asthma therapy. *Br J Pharmacol*. 2009; 157 (8): 1330-1339.
 39. Wulff H, Castle NA, Pardo LA. Voltage-gated potassium channels as therapeutic drug targets. *Nat Rev Drug Discov*. 2009; 8 (12): 982-1001.
 40. Wulff H, Rauer H, Düring T, Hanselmann C, Ruff K, Wrisch A et al. Alkoxypsoralens, novel nonpeptide blockers of Shaker-type K⁺ channels: synthesis and photoreactivity. *J Med Chem*. 1998; 41 (23): 4542-4549.
 41. Vennekamp J, Wulff H, Beeton C, Calabresi PA, Grissmer S, Hansel W et al. Kv1.3-blocking 5-phenylalkoxypsoralens: a new class of immunomodulators. *Mol Pharmacol*. 2004; 65 (6): 1364-1374.
 42. Schmitz A, Sankaranarayanan A, Azam P, Schmidt-Lassen K, Homerick D, Hansel W et al. Design of PAP-1, a selective small molecule Kv1.3 blocker, for the suppression of effector memory T cells in autoimmune diseases. *Mol Pharmacol*. 2005; 68 (5): 1254-1270.
 43. Baell JB, Gable RW, Harvey AJ, Toovey N, Herzog T, Hänsel W et al. Khellinone derivatives as blockers of the voltage-gated potassium channel Kv1.3: synthesis and immunosuppressive activity. *J Med Chem*. 2004; 47 (9): 2326-2336.
 44. Harvey AJ, Baell JB, Toovey N, Homerick D, Wulff H. A new class of blockers of the voltage-gated potassium channel Kv1.3 via modification of the 4- or 7-position of khellinone. *J Med Chem*. 2006; 49 (4): 1433-1441.
 45. Miao S, Bao J, Garcia ML, Goulet JL, Hong XJ, Kaczorowski GJ et al. Benzamide derivatives as blockers of Kv1.3 ion channel. *Bioorg Med Chem Lett*. 2003; 13 (6): 1161-1164.
 46. Ren YR, Pan F, Parvez S, Fleig A, Chong CR, Xu J et al. Clofazimine inhibits human Kv1.3 potassium channel by perturbing calcium oscillation in T lymphocytes. *PLoS One*. 2008; 3 (12): e4009.
 47. Beeton C, Wulff H, Singh S, Botsko S, Crossley G, Gutman GA et al. A novel fluorescent toxin to detect and investigate Kv1.3 channel up-regulation in chronically activated T lymphocytes. *J Biol Chem*. 2003; 278 (11): 9928-9937.
 48. Mouhat S, Visan V, Ananthakrishnan S, Wulff H, Andreatti N, Grissmer S et al. K⁺ channel types targeted by synthetic OSK1, a toxin from *Orthochirus scrobiculosus* scorpion venom. *Biochem J*. 2005; 385 (Pt 1): 95-104.
 49. Koo GC, Blake JT, Talento A, Nguyen M, Lin S, Sirotna A et al. Blockade of the voltage-gated potassium channel Kv1.3 inhibits immune responses *in vivo*. *J Immunol*. 1997; 158 (11): 5120-5128.
 50. Hahn SJ, Wang LY, Kaczmarek LK. Inhibition by nystatin of Kv1.3 channels expressed in Chinese hamster ovary cells. *Neuropharmacology*. 1996; 35 (7): 895-901.