



## “PULMONAR TUBERCULOSIS ANALIZED FROM AN IMMUNOLOGIC PERPECTIVE”

Dra. Paula Andrea Cordero Gutiérrez.  
Farmacéutica Hospital Nacional Psiquiátrico  
pcgutz21@hotmail.com

Tuberculosis pulmonar desde una perspectiva inmunológica

**Abstract.** Tuberculosis is caused by Mycobacterium Tuberculosis. This affects the lungs but it can expand into other organs.

The OMS reports a high incidence of the pathology and it could rise in the next years.

It's clear that people that suffer tuberculosis have immunologic characteristics that make them more propense to get infected.

Many studies have confirmed that the polarization of the immune response towards cellular or humoral attack , which depends on the citocine production is the key for an efficient eradication of the sickness.

In this revision I'll expose the physiopathology and epidemiology of tuberculosis and the role of the innate and acquirable immunoresponse in the development of the disease.

**Abstract.** La tuberculosis es una infección bacteriana contagiosa principalmente pulmonar causada en humanos por un patógeno aerobio obligado llamado Mycobacterium tuberculosis.

Ésta compromete principalmente los pulmones, pero puede extenderse a otros órganos.

Según las cifras de la Organización mundial de la Salud OMS, la incidencia de la enfermedad es muy alta y las proyecciones de que aumente en años posteriores es alarmante.

Sin embargo, a pesar de que como revelen las cifras posteriormente expuestas, una buena parte de la población en general ha tenido contacto con la micobacteria, no todo el que sufra un contagio es propenso a desarrollar la enfermedad y sus manifestaciones clínicas.

Es bien conocido en la actualidad, gracias a múltiples investigaciones al respecto, que la susceptibilidad o no a sufrir la enfermedad depende de la polarización de la respuesta inmunológica, cuya producción de citocinas proinflamatorias y una mayor tendencia a un ataque celular más que humoral son de vital importancia para el control de la enfermedad.

La siguiente revisión, se enfoca además de dar un breve repaso a cerca de la fisiopatología de la enfermedad, en un punto de vista inmunológico. Con el presente estudio, se pretende ahondar sobre los extensos procesos de inmunidad innata y adquirida y sus implicaciones en el desarrollo de la tuberculosis.

**Key words:** Tuberculosis, sickness, innate immunity , adaptative immunity, new perspectives of treatment.

### Antecedentes históricos y Etiología de la tuberculosis

A principios del siglo XIX los trabajos de los médicos franceses Gaspard Laurent Bayle y René Laëneec establecieron las formas y estadios de la tuberculosis como enfermedad; ambos fallecieron por su causa. El microbiólogo alemán Robert Koch descubrió, en 1882, el agente causal, el bacilo de la tuberculosis (también conocido como bacilo de Koch). En 1890, desarrolló la prueba de la tuberculina para el diagnóstico de la enfermedad. En 1924, los bacteriólogos franceses Albert Léon Calmette y Alphonse F.M. Guérin desarrollaron una vacuna denominada BCG (vacuna del bacilo de Calmette-Guérin). (19)



## Epidemiología según la OMS

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa considerada emergencia mundial por la Organización Mundial de la Salud, su incidencia es de 8 millones de nuevos casos y se ha estimado una mortalidad de aproximadamente 3 millones de personas por año. Por ejemplo en 1997, se identificó aproximadamente 16 millones de casos, según estadísticas de 212 países alrededor del mundo (11)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que, si el control de la enfermedad no mejora, entre el 2002 y el 2020, alrededor de 1.000 millones de personas en el mundo se infectarán, 150 millones contraerán la enfermedad y 36 millones morirán como consecuencia de la tuberculosis. Las regiones más afectadas son el África subsahariana, el sureste de Asia y la Europa del Este. (21)

## Fisiopatología de la enfermedad

Varios de los síntomas manifestados son: fatiga, pérdida involuntaria de peso, tos que produce flema (empieza siendo seca pero se torna productiva) y en ocasiones se presenta tos sanguinolenta, fiebre y sudoración nocturna por aumento en la concentración plasmática de estas citocinas proinflamatorias (en procesos crónicos puede generar caquexia )

## Modo de contagio y eventos posteriores de su entrada al huésped

La infección por *Mycobacterium tuberculosis* se inicia cuando una persona susceptible a la enfermedad inhala gotitas en aerosol que contienen microorganismos viables. Al llegar a los pulmones, éstos son ingeridos por macrófagos y mueren o persisten y se multiplican (ver más adelante). Hay diseminación linfática y hematogena amplia de los microorganismos antes de que se desarrolle una respuesta inmune eficaz en las que las micobacterias son aisladas en todo el cuerpo mediante la formación de los granulomas.

Este tipo de infección, llamada tuberculosis primaria suele ser asintomática. (20)

Puede diseminarse y atacar pleura, hueso, linfa, sistema genitourinario, peritoneo y piel (tuberculosis extrapulmonar) Esto sucede en aproximadamente 15% de los pacientes que desarrollan la enfermedad.

La tuberculosis pulmonar primaria progresiva se desarrolla en pocas personas cuyo sistema inmune no contiene con éxito la infección primaria. En este caso, la enfermedad puede aparecer unas semanas después de la infección o puede permanecer latente por años y reaparecer después de que la infección inicial ha sido contenida.

Los niños, los adultos mayores y las personas que están inmunocomprometidas, como los enfermos de SIDA, los que han recibido quimioterapia o quienes han sufrido trasplantes y toman medicamentos antirrechazo, tienen alto riesgo de desarrollar la enfermedad o reactivar la afección latente. En la tuberculosis pulmonar, el grado de diseminación de la enfermedad puede variar de un nivel mínimo de invasión a una invasión masiva y sin una terapia efectiva, la enfermedad empeora progresivamente.

Se han descrito cuatro posibles consecuencias durante el proceso infeccioso: a) la respuesta puede ser efectiva conduciendo a la eliminación y muerte del bacilo, el paciente jamás desarrollará tuberculosis clínica; b) la micobacteria no es eliminada totalmente y empieza a multiplicarse inmediatamente causando tuberculosis primaria como manifestación clínica; c) el sistema inmunitario puede impedir el crecimiento del bacilo sin causar eliminación total, esto puede sospecharse con positividad a la prueba intradérmica de PPD y, d) los microorganismos que han estado latentes, eventualmente vuelven a multiplicarse causando una reinfección (6)



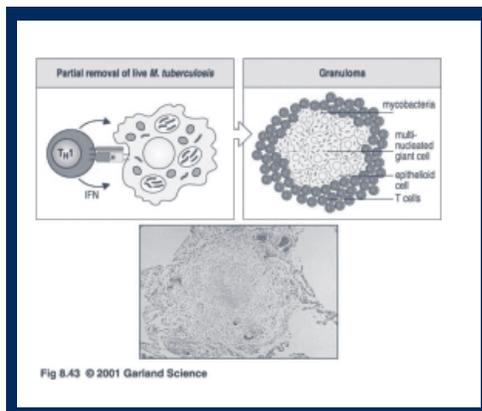
## Procesos inmunológicos implicados en la infección por M. Tuberculosis

### Inmunidad Innata:

#### Moléculas de adhesión en la migración de fagocitos

Durante la fase temprana de la infección, algunas quimiocinas como IL-8 atraen a los neutrófilos, los cuales pueden fagocitar a la micobacteria, sin la capacidad suficiente para eliminarla. La función de los neutrófilos es contener a las micobacterias evitando su diseminación, mientras son sustituidos gradualmente por macrófagos activados. Otras quimiocinas (MCP-1, MIP-1, RANTES, IP-10, Mig, I-TAC) dirigen la migración de monocitos y linfocitos para la formación del granuloma el cual tiene la finalidad de restringir el crecimiento bacilar confinando a las micobacterias en un sitio. En este sentido, la citocina TGF- $\beta$  producida por macrófagos activados, promueve el depósito de colágeno y favorece la quimiotaxis de otros macrófagos, teniendo una actividad permisiva en la formación del granuloma. (6)

Las lesiones granulomatosas pulmonares dan lugar a cavitación y la consiguiente diseminación bacteriana. Esta reacción puede ir acompañada por una intensa fibrosis y las lesiones son fácilmente visibles en las radiografías de tórax de los pacientes afectados (19).



Terminología asociada con formación de granulomas

**Formación de granulomas:** Células T y macrófagos

Area dentro del granuloma con muerte celular:  
Necrosis caseosa

Si ocurre calcificación: Tubérculos

#### Procesos de fagocitosis

Las células implicadas en limitar o eliminar al bacilo, son los macrófagos que han sido reclutados por citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$  IL-1, IL-6 y por quimiocinas. Estas moléculas son producidas en conjunto por células epiteliales, endoteliales y macrófagos alveolares.(6)

Entonces, la fagocitosis de M. tuberculosis por los macrófagos alveolares es el primer evento en la relación huésped- patógeno que decide la evolución de la infección (11).

Los receptores de complemento (CR1, CR2, CR3 y CR4), los receptores de manosa y otros receptores de superficie juegan un importante rol en la unión del parásito al fagocito.

La interacción entre los receptores de manosa y la micobacteria está dada a través de la lipoglicoproteína de membrana del mycobacterium LPA (lipoarabinomano). (11)

Una vez que el bacilo penetra en la célula está sujeto a la degradación por las enzimas de los fagolisosomas del macrófago, sin embargo, se conoce que la micobacteria posee mecanismos para evadir la destrucción por los fagolisosomas. Desde 1972, Hart et al en un estudio que realizaron sobre las acciones del macrófago ante Mycobacterium, comprobaron que esta, posee sulfatidas micobacterianas derivadas de trehalosa 2- sulfato multiacilada que tienen la habilidad de inhibir la unión del fagosoma al bacilo. Estudios in vitro han demostrado que M. Tuberculosis genera copiosas cifras de amononio, lo cual se piensa ser responsable de este efecto inhibitorio (11)

La manera de “matar” al parásito por los fagolisosomas, es a través de la generación de intermediarios reactivos de oxígeno y nitrógeno.

El rol microbicida para *M. tuberculosis* del H2O2, ha sido demostrado solamente en ratones y está pendiente su demostración en humanos.(11)

Con respecto al óxido nítrico, se sabe que citocinas proinflamatorias aumentan la expresión de iNOS necesaria para la producción de NO a partir de L-arginina. La eficacia de este radical ha sido demostrada tanto in vivo como in vitro en ratones, ya que las especies “knockout” para la enzima iNOS, se observó una replicación mucho más rápida de la bacteria que en los animales que poseen la enzima, lo cual vincula al NO con un rol bastante importante en la protección contra *M. tuberculosis*.

En humanos, los resultados son controversiales, sin embargo se han realizado estudios donde sustancias como 1,25 dihidroxicolicalciferol (Vitamina D3) que inducen la expresión de iNOS en humanos mostraron inhibición del patógeno en HL-60 (línea celular similar a macrófagos). El resultado anterior fue reforzado por otro estudio realizado en macrófagos obtenidos de lavados broncoalveolares de sujetos con tuberculosis pulmonar activa, donde se les estimulaba con interferón gamma para que produjeran NO, ya que este es un potente inductor de la expresión de iNOS y donde también se le atribuye al NO efectos antimicobacterianos. (11)

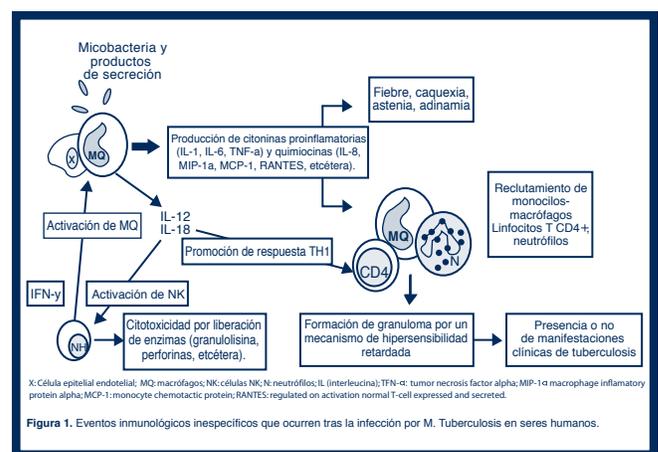
Otro mecanismo potencial envuelto en la defensa contra *M. tuberculosis*, es la inducción de apoptosis del fagocito mediante “down-regulación” de la expresión del gen para bcl-2, el cual es un conocido gen antiapoptótico, lo cual resulta en una menor viabilidad bacteriana.(11)

Sin embargo, es sorprendente los resultados mostrados por recientes estudios donde se menciona que cepas virulentas del mycobacterium son capaces prevenir la apoptosis en fases tempranas de la infección al observarse una “up-regulación” del gen bcl-2, con lo cual se provoca

un efecto antiapoptótico que permite que la bacteria pueda sobrevivir y replicarse en el macrófago con apoptosis inhibida y que en fases tardías ese macrófago sufra necrosis y pueda ser liberada la bacteria sin ser eliminada.

El efecto anterior también se logra con una “down-regulación” del receptor Fas para el ligando FasL, una proteína que al unirse a su receptor provoca la activación de las proteasas caspasas involucradas en la cascada apoptótica celular.

Los efectos anteriores parecen estar regulados por un bloqueo en la acción de proapoptótico TNF $\alpha$  o bien promoción de IL-10, que causa “up-regulación” de los genes antiapoptóticos (12)



### ***Función de proteínas Nrap***

Algunos autores demuestran que el IFN- $\gamma$  puede ejercer su acción a través de los productos de los genes Nrap (natural resistance associated macrophage protein), estas proteínas Nrap transportan nitritos del citosol a los compartimentos celulares ácidos (fagolisosomas), donde son convertidos a óxido nítrico. El óxido nítrico como se ha mencionado en reiteradas ocasiones, es el principal radical oxidante contra la micobacteria, de ahí que las proteínas Nrap se encuentren asociadas con la resistencia a la infección (6) Defectos en la producción de Nrap incrementa la susceptibilidad a la micobacteria.



### **Neutrófilos y NK**

La migración aumentada de los neutrófilos en el sitio de infección ha sugerido que estos juegan un rol en la infección.

Los neutrófilos son las primeras células en llegar, seguidas por las células NK y los linfocitos T. Estudios han demostrado que los neutrófilos a parte de su acción fagocítica, la cual puede ser aumentada por el GM-CSF, proveen defensinas (detalladas posteriormente) que tienen actividad microbicida contra la bacteria. (11)

Con respecto a las células NK, se han visto que son de particular importancia, y que tienen la función de activar fagocitos en el sitio de la infección. Además se sabe que son importantes productoras de INF $\gamma$ , nominada como la principal citoquina para el control de la infección de tuberculosis.

### **Toll-like receptors:**

Mycobacterium tuberculosis activa células vía: TLR2 o TLR4 en una manera CD-14 independiente.

Sin embargo recientes estudios (2), revelan sorprendentemente que ratones “knockout” para TLR2, TLR4 o TLR6 no demostraron defectos en resistencia aguda contra la infección.

Se conoce que todos los TLR tienen al menos una vía de señalización dependiente de MyD88. Lo cual sugiere que TLRs aún no probados o una combinación de ellos son necesarios para explicar el hecho de que MyD88 es requerida para una respuesta eficiente contra M. tuberculosis.

En el estudio realizado se demostró que ratones MyD88 $^{-/-}$  disminuyeron la expresión citoquinas pro inflamatorias necesarias para la resolución de la infección y NOS2. Sin embargo esta reducción es parcial, lo cual sugiere que es posible que otro tipo de respuestas dependientes de TLR aún no identificadas contribuyan al control de las micobacterias.

### **Péptidos antimicrobianos PAM's implicados**

Estudios (16) revelan que las protegrinas y las defensinas tienen una potente actividad microbicida contra M. Tuberculosis.

Las protegrinas son una nueva familia de PAM's aislados de leucocitos porcinos (PG-1, PG-2 y PG-3)

En estudios previos se ha demostrado que las defensinas derivadas de macrófagos (Péptido neutrofílico humano) HNP-1, HNP-2 y HNP-3 tienen actividad contra Mycobacterium avium-Mycobacterium intracellulare.

Como se conoce con anterioridad el modo de destruir del PAM, sería depositarse en la membrana celular y causar una disrupción o poro en la membrana lo cuál generaría una lisis y muerte del bacilo, sin embargo, según estudios realizados (16), se sugiere que las defensinas actúan en la superficie de la micobacteria cuyo resultado es una pérdida de viabilidad y CFU, pero no está claro si la disrupción de la membrana es suficiente por sí misma para matar a la bacteria o si se necesita eventos intracelulares adicionales para matar a la micobacteria. Para poder determinar ello con veracidad se necesitan más estudios sobre los componentes y la permeabilidad celular del bacilo.

Dentro de los resultados obtenidos específicamente para M. tuberculosis se menciona que HNP-1 disminuye CFU de M. tuberculosis de una manera concentración y tiempo-dependiente llegando en 48h a una disminución de 99%. Así mismo PG-1 inhibió el crecimiento de M. Tuberculosis en un 94.6% a 48h de incubación

Los resultados anteriores parecen ser prometedores en el uso de PAM's como tratamiento para tuberculosis. Lo cual, deja abierta la puerta para investigar más a cerca de los mecanismos de acción de estos y posteriormente trabajar sobre las limitaciones que ya de por sí son atribuidas a los PAM's como armas farmacológicas, entre las cuales se encontraban su elevada toxicidad en los tejidos y su rápida degradación ante los cambios de pH.



## **Inmunidad Adaptativa:**

La cinética de protección inmunitaria específica contra *M. tuberculosis* inicia tras la activación de linfocitos T CD4+ capaces de secretar IFN- $\gamma$ . Sin embargo, existen otras subpoblaciones celulares involucradas durante la infección por tuberculosis como los linfocitos T CD8+ y linfocitos T  $\gamma\delta$ . (6)

## **Moléculas de adhesión en la migración leucocitaria**

Las quimiocinas (citocinas con propiedades quimiotácticas) tienen la capacidad de inducir la migración direccional de los leucocitos, regulando la adhesión celular, el tráfico y la activación así como el retorno al sitio de activación inicial (homing), entre otras acciones. Generalmente, son producidas por una gran variedad de células (leucocitos, células epiteliales y macrófagos) en respuesta a factores irritantes, activadores policlonales, antígenos y citocinas (6)

Las citocinas proinflamatorias regulan positivamente la expresión de moléculas de adhesión como CD54 (ICAM-1), CD106 (VCAM-1) y CD62-E (selectina E) en el endotelio y en los leucocitos, de esta forma los leucocitos circulantes pueden migrar al sitio de lesión (6)

## **Respuesta T CD4+**

Los linfocitos T CD4+ encabezan la respuesta inmunitaria protectora a través de tres mecanismos generales: el primero de ellos es el reconocimiento de los antígenos de la micobacteria mediante el TCR en el contexto de la molécula de histocompatibilidad de tipo II (MHC-II), así los linfocitos T CD4+ antígeno-específicos, inician el segundo mecanismo general de la respuesta inmunitaria, el cual es la activación celular. Además, para una activación celular eficiente se necesitan moléculas coestimuladoras que amplifiquen la respuesta; en este sentido, estudios recientes señalan que las células epitelioides que forman parte de los granulomas expresan moléculas coestimuladoras (CD80, CD86 y CD40). El tercer mecanismo general de la respuesta inmunitaria es la fase efectora, que consiste

en la secreción de un patrón específico de citocinas. Así, la subpoblación Th1 producirá grandes cantidades de IL-2, TNF- $\alpha$  (linfotóxina) e IFN- $\gamma$  promoviendo la respuesta inmune celular y la activación de macrófagos. Además, esta respuesta induce la activación y proliferación de linfocitos T  $\gamma\delta$ , los cuales han sido asociados al reconocimiento de antígenos micobacterianos no peptídicos a través del sistema CD1. Asimismo, el IFN- $\gamma$  modula negativamente la respuesta de tipo humoral. En contraste, la subpoblación Th2 producirá grandes cantidades de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13, las cuales favorecen la respuesta inmunitaria contra patógenos extracelulares. IL-4, IL-10 e IL-13 tienen la capacidad de modular negativamente la respuesta Th1 y conforme a este esquema general, la protección contra organismos intracelulares como *M. tuberculosis* depende de la cooperación Th1. (6)

## **Respuesta T CD8+**

Los linfocitos T CD8+ reconocen el antígeno micobacteriano en el contexto de MHC-I, sin embargo todavía no se ha esclarecido completamente la ruta de acceso de éstos a la molécula de histocompatibilidad de clase I. Aunque se ha propuesto que la micobacteria libera antígenos al citoplasma y de esta forma son procesados para ser presentados por el MHC-I. Una vez activados por antígeno, los linfocitos T CD8+ producen IFN- $\gamma$  (denominados linfocitos Tc1, como ocurre con los linfocitos Th1). Sus acciones efectoras se realizan en dos sentidos: el primero, por medio de la exocitosis de sus gránulos enzimáticos, ricos en granulinas. Esta enzima forma parte de las proteínas tipo saposina, quienes interactúan con los lípidos de membrana, activando otras enzimas que degradan lípidos como las glucosilceramidases y esfingomielinasas, lo que conduce a un incremento en la concentración de ceramida que está involucrada en la inducción de apoptosis, este mecanismo conduce a la muerte de la célula blanco y a la eliminación de los bacilos intracelulares. La otra forma de daño, es la inducción de apoptosis por medio de la interacción de FasL (CD95L, en el linfocito T CD8+) con Fas (CD95, en la célula blanco); esto genera señales

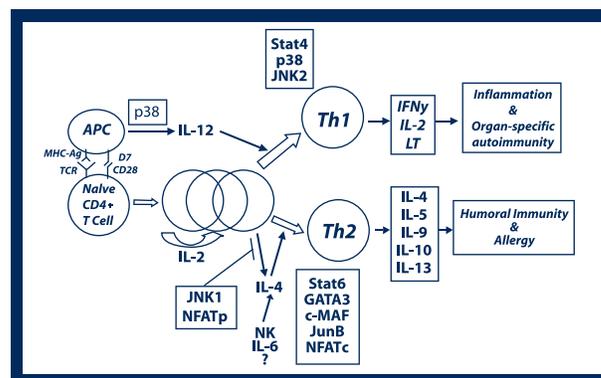


de muerte mediante la iniciación de una cascada de proteasas intracelulares llamadas caspasas. No obstante, este mecanismo sólo incluye la muerte de la célula blanco, mientras que sobreviven los patógenos contenidos en su interior, ya que en este proceso no hay enzimas que los destruyan directamente. Algunos autores sugieren que la viabilidad del bacilo disminuye tras la inducción de apoptosis, por algún mecanismo desconocido (6)

### Respuesta T $\gamma\delta$

La mayor parte de los linfocitos T circulantes en sangre periférica presentan cadenas  $\alpha\beta$  en su TCR mientras que los linfocitos T con cadenas  $\gamma\delta$  constituyen el 1-5%, generalmente se encuentran asociados a mucosas y durante la infección por tuberculosis, su porcentaje en circulación aumenta hasta un 25-30%. Se ha reportado que individuos que están en contacto con pacientes tuberculosos como el personal de salud, presentan un porcentaje superior de linfocitos T  $\gamma\delta$  en comparación con individuos no expuestos. Una característica relevante de los linfocitos T  $\gamma\delta$  es que pueden reconocer antígenos lipídicos en el contexto de moléculas CD1. La molécula CD1 tiene la capacidad de presentar glicolípidos como fosfatidilinositol dimanósidos, glucosamonomonolacto y lipoarabinomano (LAM) restringiendo a esta subpoblación celular a respuestas contra antígenos lipídicos. Recientemente, se describió que los linfocitos T  $\gamma\delta$  pueden tener subpoblaciones fenotípicas y funcionales similares a la dicotomía Th1/Th2, esto ha sugerido un efecto inmunorregulador para los linfocitos T  $\gamma\delta$  (linfocitos T  $\gamma\delta$ -1 y T  $\gamma\delta$ -2) de acuerdo con el patrón característico en la producción de citocinas. (6)

### Influencia de las citoquinas y quimiocinas en la tuberculosis



Como se mencionó con anterioridad, las citoquinas que favorezcan una polarización Th1, son las “citoquinas favorables” para la resolución exitosa de la infección por *M. tuberculosis*. Evidentemente, aquellas con el efecto contrario, favorecerán el mal diagnóstico de la enfermedad. Ver figura anterior.

El aumento en la concentración plasmática de estas citoquinas proinflamatorias produce fiebre y en procesos crónicos puede generar caquexia, que el paciente con tuberculosis severa y/o crónica, manifiesta clínicamente. (6)

Citoquinas que promueven Th1: IL-12, IFN  $\gamma$  (proteína clave en el control), IFN  $\alpha$  e INFB, TNF  $\alpha$ : Sinergia IFN gamma e inducción de iNOS; IL-1: Reacción aguda: fiebre y caquexia; IL-2 e IL-18. Estudios han demostrado individualmente, como ratones “Knockout” de genes codificantes para la citoquinas mencionadas tienen serios problemas en el control de la infección. Citoquinas que promueven Th2: IL-4, IL-10, TGF- $\beta$ .

Quimiocinas: CX3CL1: es un quimiocina enlazada a la membrana que es inducida por citoquinas proinflamatorias en las células vasculares endoteliales y se ha descubierto que células NK tienen numerosos receptores para dicha quimiocina y está expresada principalmente en reacciones celulares Th1 lo que la implica en la amplificación de las respuestas Th1 importantes en tuberculosis. (14)



También se ha manejado el concepto de que los posibles antagonistas de citoquinas favorecedoras de Th2 así como: IL-4 $\delta$ 2 (antagonista competitivo de IL-4): la cual es una variante recientemente descrita de IL-4, la cual es capaz de unirse al receptor de IL-4 (IL-4R en la parte alfa), pero que no tiene la misma actividad que IL-4 (18). Farmacológicamente una sustancia que se une a un receptor celular o enzimático al igual que la sustancia original o endógena que genera un efecto determinado y no es capaz de hacer la misma acción, sino que más bien bloquea el receptor para que la sustancia endógena no pueda unirse se conoce como antagonista competitivo.

En el caso de la tuberculosis, lo que esto significa es que, como se mencionó con anterioridad, sólo el IFN  $\gamma$ , no explica resolución clínica de la enfermedad. En estudios realizados al respecto (18), se concluye por tanto, que el control de la tuberculosis no está asociada solo con una elevada respuesta TH1, sino también con la inhibición de Th2.

### **Influencia de eicosanoides en la evolución de la enfermedad**

Recientes estudios señalan que las lipoxinas dependientes de la 5- lipooxigenasa regulan negativamente la producción in vivo en IL-12 en el huésped. La cuál es indispensable para la polarización hacia la respuesta TH1. (15)

En artículos de revisión (15), se menciona que la lipoxina A4 (LXA4), tiene efecto negativo en las reacciones Th1; ya que ratones deficientes en la enzima (5-lo/-) mostraron un incremento pulmonar de los niveles de mRNA para IL-12, IFN $\gamma$  y NOS2 (sintetasa de óxido nítrico inducida) comparado con los mismos tejidos de la cepa salvaje de los ratones.

Como se conoce, las lipoxinas son eicosanoides derivados del ácido araquidónico sintetizadas por diferentes tipos celulares incluyendo leucocitos, células endoteliales y plaquetas y que juegan un rol importante en la inmunoregulación de la inflamación. (15) No sólo se ha relacionado con

acciones “downreguladoras” contra varias citoquinas proinflamatorias y en la citotoxicidad de las células NK, además de generar disminución en la producción de varias moléculas de adhesión relacionadas con la migración de neutrófilos y eosinófilos.

Lo anterior señala a la enzima 5-LO (productora de lipoxina) como un blanco terapéutico de la intervención inmunofarmacológica; ya que el uso de inhibidores de esta enzima, puede controlar la alta producción de LXA4 observada en este caso en los ratones infectados por Mycobacterium Tuberculosis y así evitar que esta lipoxina ejerza su acción downreguladora de las citoquinas proinflamatorias y de la iNOS (ó NOS2) las cuales son requeridas para el control de la infección tanto por su desvío de los linfocitos T CD4+ hacia el tipo Th1 para controlar la infección, como por la producción de óxido nítrico el cuál, como se menciona con anterioridad es el principal radical implicado en la lisis fagolisosomal.

### **Mecanismos de evasión bacteriana**

M. tuberculosis está equipada con numerosas estrategias para la evasión del sistema inmune incluyendo:

Modulación de la presentación antigénica para evitar respuesta por células T

Secreción de enzimas catalasa y sueroxido dismutasa evitan la toxicidad por radicales libres e iones superóxido.

Las sulfatidas antes mencionadas evitan la fusión al fagolisosoma y son moléculas que contrarrestan la acción de radicales libres. Esto último se aplica también para por lipoarabinomananos y los glicolípidos fenólicos de la micobacteria.

Otras vías de escape y las mencionadas con anterioridad se analizan en la siguiente figura.

### **Diseño de nuevas vacunas**

Nuevos estudios (10), (13) enfocan la fabricación de vacunas hacia plásmidos DNA que codifiquen



para antígenos del mycobacterium tales como Ag85A, Ag85B o PstS-3. Con el fin de estimular una respuesta celular citotóxica y TH1, crucial en la protección para tuberculosis más que producción de anticuerpos.

Los anticuerpos producidos contra péptidos antigénicos de bajo peso molecular tales como ESAT-6, son importantes para el diagnóstico de la enfermedad, ya que no las posee la BCG. Esto hace a los anticuerpos anti ESAT-6 mucho más sensibles puesto que individuos que han sido vacunados con BCG no darían positivos en dicha prueba y si darían positivos aquellos individuos sanos o enfermos que han tenido contacto con el patógeno (3)

Otras vacunas ensayadas son contra péptidos de bajo peso molecular como la generada con DNA que codifica para una lipoglicoproteína de 38 kilodaltons de Mycobacterium tuberculosis, en donde estudios in vitro señalan un aumento en la producción de INF $\gamma$  en células esplénicas de ratones vacunados con el plásmido, lo que refleja una eficiente respuesta celular hacia el patógeno.

Las nuevas vacunas pDNA, están siendo ensayadas en formulaciones intramusculares e intranasales en vectores lipídicos (lípidos catiónicos) tal como VC1052:DpyPE para administración intramuscular y el GAP-DLRIE:DOPE para administración intranasal.

Estas formulaciones permitieron aumentar los niveles de IgG contra Ag85A de 3 a 10 veces y también lograron aumentar el nivel de citocinas de tipo de Th1 (IL-2 e INF $\gamma$ ) en los animales vacunados y una mejor duración de la respuesta de CD8 contra el PstS-3 que la generada cuando pDNA se administraba en solución salina en lugar de usar el lípido catiónico. Con respecto a la administración nasal también generaba citocinas de tipo Th1 pero la respuesta a largo plazo fue mucho menor que la obtenida con la inmunización intramuscular.

## Tratamientos contra tuberculosis

### A . *Tratamiento tradicional*

El primer agente quimioterapéutico específico para la tuberculosis fue la estreptomina, descubierta por el microbiólogo norteamericano Selman Abraham Waksman en 1944. Este descubrimiento fue seguido en 1948 por el del PAS (ácido para-aminosalicílico) y más tarde por la isoniazida y otros fármacos que revolucionaron el tratamiento de la tuberculosis (21).

El objetivo del tratamiento es curar la infección con drogas antituberculosas, para lo cual se prescriben dosis orales diarias de drogas múltiples que pueden incluir combinaciones de rifampicina, isoniazida, pirazinamida, etambutol (y ocasionalmente otras) hasta que los resultados de los cultivos (si se dispone de ellos) que muestran la sensibilidad de la droga a la infección micobacteriana ayuden a orientar la selección de dichas drogas.

El tratamiento se suele hacer durante 6 meses, aunque es posible que se requieran cursos más prolongados de la droga para pacientes con SIDA o aquellos en quienes la enfermedad responde lentamente. Para la tuberculosis atípica o para las cepas resistentes a la droga, se pueden indicar otros tipos de medicamentos y duración diferente de la terapia para tratar la infección

Se puede solicitar la hospitalización para prevenir la propagación de la enfermedad a otros hasta que se supere el período de contagio con la terapia con medicamentos. La actividad normal se puede reanudar después del período de contagio.

### B. *Nuevas opciones de tratamiento antibiótico*

La aparición de cepas resistentes a los tratamientos de primera elección ha contribuido en el aumento de la enfermedad y en el diseño de nuevas drogas eficaces contra las micobacterias. Además como se expuso con anterioridad el aumento en casos de SIDA hace que paralelamente se dispare la susceptibilidad de estos individuos a ser más susceptibles a la tuberculosis.



Nuevos fármacos que podrían ser usados eventualmente como segunda opción, se encuentran (5)

- Los derivados de rifamicina (rifabutin, rifapentina y rifalazil)
- Fluoroquinolonas (Ciprofloxacina, Ofloxacina, Sparfloxacina, Levofloxacina, Gatifloxacina, Sitafloxacina, Moxifloxacina y otros)
- Macrólidos (Azitromicina, Claritromicina y Roxitromicina)

Otras opciones que se encuentran actualmente en fase clínica o que están siendo considerados como blancos (5) son:

- Oxazolidona (PNU-100480)
- 5´nitroimidazoles (CGI 17341)
- 2-piridonas (ABT-255)
- Nuevas riminofenazinas
- Nitroimidazopiranos (PA-824)
- Nuevos ketólidos (ABT-773, telitromicina) y
- Defensinas (HNP-1)

### C. Nuevas perspectivas de tratamiento no anti-biótico

El hecho de conocer cada vez más información a cerca del genoma del mycobacterium y de los procesos bioquímicos y enzimáticos requeridos para la supervivencia del bacilo, incrementa también el conocimiento sobre sus factores de virulencia; y por tanto a la identificación de nuevos blancos terapéuticos.

Actualmente se piensa en:

- Inhibidores contra la síntesis de dTDP-rhamnosa.
- Oligonucleótidos DNA antisentido que codifiquen para ciertas vías enzimáticas o factores de virulencia y por tanto bloqueen la transcripción y por tanto la traducción de estos al pegarse a su tira de DNA correspondiente.

- Tecnología de polimicroesferas (DL-lactida –co-glicólido): Para la encapsulación de drogas que requieran la tecnología de liberación prolongada en microdosis debido a su toxicidad.
- Citoquinas: IL-12 e INF gamma, las cuales no son muy prometedoras debido a todos los posibles adversos que podrían generar.
- ATP y sus análogos: Podrían potenciar la actividad antimicrobica de los macrófagos vía receptor purinérgico P2X7.

### Conclusiones

La tuberculosis pulmonar ha venido en aumento en los últimos años, principalmente por el aumento también en la incidencia de individuos que poseen inmunodeficiencias adquiridas por VIH.

Lo anteriormente mencionado hace que tomen relevancia las investigaciones a cerca de los procesos bioquímicos y enzimáticos requeridos para la supervivencia de la bacteria, los factores genéticos relacionados y los factores inmunológicos desarrollados por el huésped al tener contacto con el patógeno.

Según los artículos revisados, y la inmensa cantidad de estudios realizados sobre el tema por múltiples investigadores, es definitivo concluir que las personas que resuelven con eficiencia y eficacia la infección por Mycobacterium Tuberculosis, son aquellas que desarrollan una polarización hacia las reacciones de tipo Th1. Lo cual muestra de hecho que al ser la micobacteria un parásito intracelular, el control de la infección de parte del huésped se debe a que su sistema inmune tenga una reacción de tipo celular; ya que los anticuerpos tienen poca importancia en las enfermedades causadas por organismos intracelulares.

Se concluye por tanto, que todas aquellos factores genéticos o moleculares en el huésped que propicien una reacción Th1, como la producción de citocinas como INF $\gamma$ , IL-12 e L-18, entre otras y ciertas moléculas de adhesión molecular, así como factores de virulencia del patógeno o por el contrario factores inhibitorios de la respuesta Th2, son los que van a llevar a ese individuo a que resuelva con éxito la infección por M. tuberculosis.



Todos estos factores genéticos, bioquímicos e inmunológicos relacionados con el patógeno y el huésped que se mencionaron a lo largo de la revisión, son claves para el diseño de nuevos fármacos basados en nuevas tecnologías e ingeniería genética y molecular que revolucionen y desplacen los tóxicos tratamientos de primera línea contra la tuberculosis.

### Bibliografía

1. Chackerian et al. Gamma Interferon-Producing CD4+ T Lymphocytes in the Lung Correlate with Resistance to Infection with Mycobacterium Tuberculosis. Revisión tomada de Pubmed.

2. Scanga et al. MyD88- Deficient Mice Display a Profound Loss in Resistance to Mycobacterium tuberculosis Associated with Partially Impaired Th1 Cytokine and Nitric Oxide Synthase 2 Expression.. Revisión tomada de Pubmed.

3. S.T. Beck et al. Humoral response to low molecular weight antigens of Mycobacterium tuberculosis by tuberculosis patients and contacts. Revisión tomada de Pubmed.

4. S. L. Baldwin. Evaluation of New Vaccines in the Mouse and Guinea Pig Model of Tuberculosis. Revisión tomada de Pubmed.

5. Tomioka H . Prospects for development of new antituberculous drugs Revisión tomada de Pubmed.

6. Artículo de Revisión. Avances en el estudio de los mecanismos moleculares de supresión de la respuesta inmunitaria en la tuberculosis. Rev Inst Nal Enf Resp Mex 2001: Vol.14(1);39-48.

7. Oka H. et al. Antimetastatic effect of an immunomodulatory arabinomannan extracted from Mycobacterium tuberculosis strain . Revisión tomada de Pubmed.

8. Lande R. et al. IFN-alpha beta released by Mycobacterium tuberculosis-infected human dendritic cells induces the expression of CXCL10: selective recruitment of NK and activated T cells. Revisión tomada de Pubmed.

9. Kinjo Y. Contribution of IL-18 to Th1 response and host defense against infection by Mycobacterium tuberculosis: a comparative study with IL-12p40. Revisión tomada de Pubmed.

10. D'Souza S et al. Improved tuberculosis DNA vaccines by formulation in cationic lipids. Revisión tomada de Pubmed.

11. Alamelu Raja. Immunology of Tuberculosis. Indian J Med Res 120, October 2004. pp 213-232.

12. Jianling Zhang et al. Survival of Virulent Mycobacterium tuberculosis Involves Preventing Apoptosis Induced by Bcl-2 Upregulation and Release Resulting from Necrosis in J774 Macrophages. Microbiol. Immunol., 49(9). 845-852. 2005.

13. Fonseca DP. Induction of cell-mediated immunity against Mycobacterium tuberculosis using DNA vaccines encoding cytotoxic and helper T-cell epitopes of 38-kilodalton protein. Revisión tomada de Pubmed.

14. Fratilleli P, et al. Fractalkine (CX3CL1) as an important circuit of polarized Th1 responses Revisión tomada de Pubmed.

15. Andre Bafica et al. Host Control of Mycobacterium tuberculosis is regulated by 5-lipoxygenase-dependent lipoxin production. J Clin Invest. 2005 June 1. 115(6): 1601-1606.

16. Yosuke Miyakawa et al. In vitro activity of the Antimicrobial Peptides Human and Rabbit Defensins and Porcine Leukocyte Protegrin against Mycobacterium tuberculosis. Infection and Immunity. Mar. 1996 pp 926-932.

17. Polarization of PPD-Specific T-cell Response of Patients with Tuberculosis from Th0 to Th1 Profile after Successful Antimycobacterial Therapy or In Vitro Conditioning with Interferon alpha or Interleukin-12. Revisión tomada de Pubmed.

18. Abebech Demissie et al. Healthy Individuals That Control Latent Infection with Mycobacterium tuberculosis Express High Levels of Th1 Cytokines and the IL-4 Antagonist IL-4 $\delta$ 2 Revisión tomada de Pubmed.

19. Roitt et al. Inmunología. Editorial Harcourt. 5ta edición pp346-351

20. L.Tierney et al. Diagnóstico clínico y tratamiento. Editorial El Manual Moderno. 34ta ed en español. 1999 pp 282-288.

21. Enciclopedia Encarta. Microsoft