

33 Expresión de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clases I y II en pacientes con tuberculosis: efecto de la infección *in vitro* con *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv

Julieta Henao P.¹, Luis Fernando Barrera²

PALABRAS CLAVE

COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS
IFN γ
VÍA JAK-STAT

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Es ampliamente conocido que pacientes con tuberculosis (TB) activa pueden presentar alteraciones en la respuesta inmunológica, incluyendo defectos en la presentación antigénica. Dado el papel crítico del IFN γ y de las moléculas clase II en la inmunidad antimicrobiana, una estrategia desarrollada por microorganismos intracelulares, incluyendo virus, protozoos y bacterias, para evadir la respuesta inmune del hospedero, es la inhibición de la expresión de las moléculas del CMH. La mayor parte de las evidencias obtenidas hasta la fecha indican que estas infecciones intracelulares conducen a diferentes alteraciones en la vía de transducción de señales mediada por Jak1,2-Stat1, las cuales se han asociado con una disminución en la expresión superficial del CMH.

Evidencias obtenidas en nuestro laboratorio, utilizando la línea celular de macrófagos murinos B10R infectada con *Mtb*, sugiere que esta infección altera la vía de transducción de señales mediada por Jak-Stat, la cual a su vez conduce a la disminución en la expresión de CIITA, un coactivador esencial para la expresión del CMH. De otro lado, se ha observado que la presencia de TGF β e IL-10 también puede conducir a una disminución en la expresión del CMH II, a través de mecanismos dependientes e independientes de la vía JAK-Stat. Dado que una fracción apreciable de pacientes con TB muestran niveles elevados de estas citoquinas, ellas pudieran participar en la disminución de la expresión de las moléculas del CMH observada en algunos pacientes.

OBJETIVO GENERAL

Examinar la expresión superficial del CMH en células provenientes de individuos con diferentes formas de tuberculosis y establecer si la infección *in vitro* con *Mtb* H37Rv de monocitos y macrófagos derivados de monocitos, obtenidos de pacientes y controles sanos PPD⁺ y PPD⁻, conduce a una inhibición de la expresión del CMH mediada por la vía de transducción de señales Jak-Stat.

METODOLOGÍA

ELISA, Citometría de flujo, RT-PCR.

RESULTADOS ESPERADOS, DISCUSIÓN

La evidencia obtenida hasta el momento sugiere que los posibles defectos en la expresión de los antígenos del CMH en pacientes con TB podrían explicarse por alteraciones de la vía Jak-Stat.

BIBLIOGRAFÍA

- VÁSQUEZ MG, PATIÑO E, GARCÍA LF, BARRERA LF. Los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad clase II. Regulación y relación con infecciones intracelulares. *Acta Med Colomb* 2001; 26: 73-81.

¹ Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín Colombia.

² Estudiante de Maestría, Posgrado en Ciencias Básicas Biomédicas

² Profesor, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.
julieta.henao@eudoramail.com

34 Papel del calcio en la modulación de la supervivencia intracelular de *Mycobacterium tuberculosis*

Diana Gil¹, Mauricio Rojas², Luis Fernando García²

PALABRAS CLAVE

MACRÓFAGO
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS
CALCIO
APOPTOSIS
FAGOLISOSOMA

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO

Mycobacterium tuberculosis (*Mtb*) induce alteraciones en la señalización que podrían favorecer el crecimiento intracelular de la bacteria. Hay alteraciones en respuestas al IFN γ , activación de fosfatasa, inhibición del fagolisosoma y cambios en los flujos de iones como el Ca²⁺. Estos eventos dependen de los receptores por los cuales sea reconocida la micobacteria, por ejemplo, en macrófagos murinos la interacción con el receptor de manosa (MMR), pero no con CD14, ni receptores tipo "scavenger" induce flujos de Ca²⁺, que alteran la mitocondria y se asocian con apoptosis. En macrófagos humanos, la fagocitosis a través de receptores Fc, pero no de receptores de complemento, aumenta el Ca²⁺ que favorece la translocación al fagosoma de la calmodulina (CaM) que activa la quinasa II dependiente de CaM (CaMKII), permitiendo la fusión del fagolisosoma y disminuyendo el crecimiento de *Mtb*. El bloqueo de esta vía favorece el crecimiento de la micobacteria. Esto indica que el Ca²⁺ puede modular la apoptosis y las señales que controlan la micobacteria, sugiriendo que la modulación de esta vía puede ser un blanco putativo para la intervención farmacológica. Por lo tanto proponemos como objetivo general establecer si la terapia anti-micobacteriana modula las vías de señalización dependientes de Ca²⁺ y la actividad de la CaMKII en macrófagos infectados con *Mtb*.

METODOLOGÍA

El crecimiento intracelular de la micobacteria se ha medido con ³HUdR, la estabilidad mitocondrial con DIOC₆, la fragmentación del DNA mediante TUNEL, la caspasa 1 activa con YVAD-CHO-biotina, IL-10 y TNF α intracelularmente por citometría de flujo. La movilización de Ca²⁺ con el quelante Fluo-2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las drogas antimicobacterianas inducen la despolarización de la mitocondria, que es una vía dependiente de Ca²⁺. En células infectadas la estabilización de la mitocondria se correlaciona con la inhibición intracelular de la micobacteria (p<0.05), todas las drogas inhiben la producción de TNF α e IL-10, la activación de caspasa-1 y la fragmentación del DNA inducida por *Mtb*, pero no por el derivado proteico purificado (PPD), lo cual sugiere que los efectos antiapoptóticos de las drogas dependen del bloqueo que ejercen sobre la micobacteria.

BIBLIOGRAFÍA

- MALIK ZA, DENNING GM, KUSNER DJ. Inhibition of Ca(2+) signaling by *Mycobacterium tuberculosis* is associated with reduced phagosome-lysosome fusion and increased survival within human macrophages. *J Exp Med* 2000; 191: 287-302.
- MALIK ZA, IYER SS, KUSNER DJ. *Mycobacterium tuberculosis* phagosomes exhibit altered calmodulin-dependent signal transduction: contribution to inhibition of phagosome-lysosome fusion and intracellular survival in human macrophages. *J Immunol* 2001; 166: 3.392-3.401.
- ROJAS ML, GARCIA F, NIGOU J, PUZO G, OLIVIER M. Mannosylated Lipoarabinomannan antagonizes *Mycobacterium tuberculosis*-induced macrophage apoptosis by altering Ca+2-dependent cell signaling. *J Infect Dis* 2000;182: 240-251.

.....
Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

¹ Estudiante de Maestría, Posgrado en Ciencias Básicas Biomédicas

² Profesor, Centro de investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia
dipagil@hotmail.com