

---

# Citoquinas en tuberculosis

**LUIS F. GARCÍA, MAURICIO ROJAS, MAURICIO ARIAS,  
JOVANY ZABALETA, JAIME RODRÍGUEZ, SARA PARÍS,  
LUIS F. BARRERA**

La tuberculosis continúa siendo un modelo inmunológico para estudiar las infecciones intracelulares. Entender los complejos mecanismos de interacción de la micobacteria con el sistema inmune del hospedero permitirá un manejo más racional de los fenómenos clínicos que se presentan en la enfermedad. Las citoquinas desempeñan un papel fundamental tanto en el desarrollo de los mecanismos de inmunidad protectora como en el daño tisular presente en esta enfermedad. La estimulación *in vitro* de linfocitos de sujetos sanos tuberculino positivos con antígenos específicos induce preferencialmente un patrón de citoquinas tipo I ( $\uparrow$ IL-2,  $\uparrow$ IFN- $\gamma$ ,  $\downarrow$ IL-4,  $\downarrow$ IL-5), mientras que en la mayoría de los pacientes no se presenta este patrón. Las citoquinas tipo I conducen a la activación de los macrófagos que a su vez inhiben la replicación de las micobacterias. En el ratón, los macrófagos activados inhiben la micobacteria por medio del óxido nítrico; en los humanos la producción de óxido nítrico por los macrófagos no está plenamente demostrada. Recientemente se ha demostrado que la infección con *M. tuberculosis* puede inducir apoptosis en los macrófagos infectados. La apoptosis depende de la producción del Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  y de óxido nítrico. Paradójicamente,

el lipoarabinomanán manosilado (ManLAM) presente en la pared de las micobacterias inhibe la apoptosis. Estos hallazgos muestran un nuevo fenómeno en la interacción micobacteria-macrófago el cual debe estar finamente regulado tanto en el microorganismo como en el hospedero.

**PALABRAS CLAVE**  
TUBERCULOSIS  
*MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*  
LINFOCITOS  
MACRÓFAGOS  
CITOQUINAS  
ÓXIDO NÍTRICO  
APOPTOSIS

---

**DOCTOR LUIS F. GARCÍA**, Profesor Titular, Centro de Investigaciones Médicas; **MAURICIO ROJAS**, Estudiante de Doctorado en Ciencias Básicas Biomédicas; **MAURICIO ARIAS**, Estudiante de doctorado; **JOVANY ZABALETA**, Asistente de Investigación; **JAIME I. RODRÍGUEZ**, Estudiante de Doctorado en Ciencias Básicas Biomédicas; **LICENCIADA SARA C. PARÍS**, Profesora Titular, Departamento de Microbiología y Parasitología; **DOCTOR LUIS F. BARRERA**, Profesor Asistente, Centro de Investigaciones Médicas; Laboratorio Central de Investigaciones; todos de la Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

---

La tuberculosis es un problema clínico y epidemiológico de gran importancia en la actualidad; sin embargo, también es un problema y un modelo inmunológico que es necesario investigar más profundamente para poder entender y manejar más racionalmente el primero. La respuesta a la infección por *M. tuberculosis* involucra todos los componentes del sistema inmune y su desenlace, infección o enfermedad, lo mismo que la gravedad de la última dependen en gran medida de la forma como los diferentes componentes inmunológicos se comporten.

La respuesta inmune está regulada fundamentalmente por genes que codifican moléculas receptoras presentes en la superficie de las células del sistema inmune y mediadores solubles que reaccionan directamente con el antígeno, como los anticuerpos, o con capacidad de modificar el comportamiento de otras células, como las citoquinas (1). En el caso específico de la respuesta antimicobacteriana se ha involucrado la gran mayoría de las citoquinas descritas hasta el momento y el objetivo de esta revisión es describir someramente el papel que juegan estas moléculas en condiciones normales, control de la infección, o patológicas en la producción de daño tisular.

El ingreso de *M. tuberculosis* al organismo se hace primordialmente por vía aérea y en los alvéolos pulmonares las primeras células que hacen contacto con el microorganismo son los macrófagos alveolares (2,3). Una vez ingerida la micobacteria, los macrófagos, dependiendo de su constitución genética, serán capaces de controlar su multiplicación intracelular o, por el contrario, aquella se multiplicará para eventualmente destruir la célula hospedera e invadir nuevos macrófagos. Sin embargo, desde estas primeras etapas, las citoquinas producidas por los macrófagos juegan un papel primordial. El macrófago infectado produce IL-1 $\beta$ , IL-12 y TNF- $\alpha$  (4,5).

De las citoquinas mencionadas la IL-12 ha recibido recientemente mucha atención pues su estudio ha permitido identificar un nuevo circuito de regulación de la respuesta inmune celular indepen-

diente de los linfocitos T (6). La IL-12 induce la producción de IFN- $\gamma$  por células NK, el cual, a su vez, tiene la capacidad de activar los macrófagos para que inhiban la replicación de los microorganismos intracelulares. El papel fundamental de la IL-12 en la respuesta antimicobacteriana ha sido demostrado recientemente en una familia con infección diseminada por *M. avium* (7). Los linfocitos de los miembros afectados mostraron una disminución en la producción de IFN- $\gamma$  secundaria a un defecto en la producción de IL-12 por los monocitos de estos pacientes. En esta familia fue incluso posible demostrar niveles intermedios de producción de IL-12 por monocitos de posibles portadores heterocigotos.

Simultáneamente a los mecanismos innatos con los cuales el macrófago enfrenta la replicación intracelular de la bacteria, se produce la presentación de los antígenos micobacterianos por parte de los mismos macrófagos a las diferentes poblaciones linfocitarias. En la respuesta antimicobacteriana están involucradas todas las poblaciones linfoides, incluyendo T $\gamma\delta$ , T $\beta$  (CD4+ y CD8+) y linfocitos B y sus productos participan bien sea en la defensa o en la patogénesis de la enfermedad (8-11).

Actualmente uno de los paradigmas de la inmunología es el de los perfiles de producción de citoquinas. Inicialmente se pensó que estos perfiles dependían de los linfocitos CD4+, llamados células ayudadoras o TH y por eso se dividieron en TH1 y TH2. En este momento se sabe que todas las poblaciones T ( $\gamma\delta$ ,  $\alpha\beta$ CD4+ y  $\alpha\beta$ CD8+), además de otras células, presentan esta división funcional, de tal manera que hay células que producen preferencialmente IL-2 e IFN- $\gamma$ , esto es un patrón T1, y otras IL-4, IL5 e IL-10, o patrón T2, además de un patrón mixto o T0 (5,10,12). El patrón T1 se asocia principalmente con activación de macrófagos y de linfocitos T citotóxicos y por lo tanto con respuestas de defensa antimicobacterianas. Por el contrario, las respuestas de tipo T2 llevan preferencialmente a la producción de anticuerpos por parte de los linfocitos B y a la desactivación de los macrófagos mediada por la IL-10, lo cual favorece la replicación intracelular del microorganismo

(13,14). Igualmente existe una regulación negativa entre citoquinas de ambos tipos, específicamente el IFN- $\gamma$  inhibe la expresión de IL-4 y ésta inhibe al IFN- $\gamma$  (15).

En el caso de infección con *M. tuberculosis* está ampliamente demostrado que los linfocitos circulantes de la mayoría de los pacientes con tuberculosis pulmonar presentan defectos en la producción de IL-2 e IFN- $\gamma$  en respuesta a la estimulación con PPD, comparativamente con linfocitos de individuos sanos tuberculino positivos (16,17\*). En el caso de la pleuritis tuberculosa, que se considera una reacción inflamatoria defensiva, los linfocitos aislados del líquido pleural producen altos niveles de estas dos linfocinas. Lo anterior sugiere que en la infección tuberculosa hay una respuesta de tipo T1, mientras que en la enfermedad pulmonar hay defectos en este tipo de respuesta; sin embargo, no ha sido posible demostrar claramente un aumento en las citoquinas de tipo T2 (17\*,18), aunque sí hay incremento en los niveles de anticuerpos que correlacionan con la extensión de la enfermedad.

El mecanismo efector en la respuesta anti *M. tuberculosis* está dado por la activación de los macrófagos y la presencia de células T citotóxicas capaces de lisar los macrófagos infectados. En ambos casos el IFN- $\gamma$  juega un papel decisivo y se considera, de acuerdo con las evidencias obtenidas en el modelo murino, como la citoquina más importante en la activación de los macrófagos (15). En el humano el papel del IFN- $\gamma$  no es tan claro y la mejor evidencia sugiere que para lograr la activación de los macrófagos humanos se requiere de IFN- $\gamma$  más hidroxivitamina D3 y que el TNF- $\alpha$  sinergiza con los anteriores (19). De todas maneras es necesario recordar que mientras en los ratones el óxido nítrico producido por los macrófagos en respuesta al propio microorganismo y sus productos, al IFN- $\gamma$  y al TNF- $\alpha$  (20\*), en el caso de los macrófagos humanos no ha sido posible demostrar claramente la producción de cantidades suficientes de óxido nítrico que expliquen su actividad antimicobacteriana (21\*). Lo anterior demuestra la necesidad de profundizar en los mecanismos reguladores de la activación/desactivación de los macrófagos expuestos al bacilo tuberculoso.

Recientemente se ha puesto en evidencia una nueva faceta de la interacción micobacteria-macrófono. Fagocitos mononucleares infectados con *M. bovis*, en presencia de ATP, presentan muerte celular programada o apoptosis (22). Igualmente, monocitos humanos activados con IFN- $\gamma$  e infectados con *M. avium* también exhiben apoptosis (23). Por su parte, el *M. tuberculosis* virulento, pero no las cepas avirulentas ni algunas micobacterias atípicas, inducen apoptosis en macrófagos murinos, preferencialmente del genotipo Bcg<sup>r</sup>, lo cual parece depender de la producción de TNF- $\alpha$ , que a su vez activa la producción de óxido nítrico (24\*). Es interesante que mientras el PPD tiene un efecto apoptótico similar al de las micobacterias vivas, el lipoarabinománan manósilado (ManLAM) inhibe la apoptosis a pesar de que induce la producción de óxido nítrico (24\*). Los resultados anteriores sugieren que la apoptosis de los macrófagos infectados con micobacterias puede ser un nuevo mecanismo por el cual las células fagocíticas al morir privan a los microorganismos de un nicho intracelular en el cual replicarse.

Finalmente, es necesario resaltar que en la tuberculosis hay al menos dos citoquinas producidas por los macrófagos y que parecen ser responsables del daño tisular: El TNF- $\alpha$  y el TGF- $\beta$  (4). El primero es citotóxico para las células epiteliales, disminuye la producción de surfactante por los neumocitos tipo II, induce la producción de colagenasas por los fibroblastos y la producción de metabolitos reactivos del oxígeno y del nitrógeno. El TGF- $\beta$  se ha asociado con producción y depósito de la matriz del colágeno, la producción de colagenasa por los macrófagos y con fibrosis pulmonar extensa.

En resumen, las complejas interacciones que ocurren entre el *M. tuberculosis* y el sistema inmune son responsables tanto del control de la infección como de su diseminación y de la producción del daño tisular y en ellas las citoquinas, como mediadores intercelulares, juegan un papel definitivo. Una mejor comprensión de estos fenómenos es ne-

---

\* Investigaciones financiadas por COLCIENCIAS.

cesaria para el desarrollo de formas más racionales de manejo y prevención de la enfermedad.

## SUMMARY

### CYTOKINES IN TUBERCULOSIS

Tuberculosis continues to be a model to study the immunological aspects of intracellular infections. A better understanding of the mycobacteria-host interaction would allow a more rational approach to the clinical problems of this disease. Cytokines play a key role in the development of protective immunity as well as in the tissue injury that occurs during the disease. *In vitro* stimulation with specific antigens of lymphocytes from tuberculin positive healthy subjects induces a type I cytokine pattern ( $\uparrow$ IL-2,  $\uparrow$ IFN- $\gamma$ ,  $\downarrow$ IL-4,  $\downarrow$ IL-5) whereas lymphocytes from tuberculous patients do not exhibit it. Type I cytokines activate macrophages able to inhibit mycobacteria intracellular growth. In mice, nitric oxide produced by activated macrophages is responsible for such effect; however, the production of nitric oxide by human macrophages has not been conclusively demonstrated. Recent reports have shown that infection with *M. tuberculosis* induces apoptosis in infected macrophages. Apoptosis in such conditions is Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  and nitric oxide dependent. Paradoxically, mannosylated liparabinomann (ManLAM), a structural component of the mycobacterial cell wall, inhibits apoptosis of infected macrophages. These results demonstrate a new aspect of the mycobacteria-macrophage relationship that must be finely regulated by both the microorganism and the host.

## BIBLIOGRAFÍA

1. PAUL WE, SEDER RA. Lymphocyte responses and cytokines. *Cell* 1994; 76: 241-251.
2. FENTON MJ, VERMEULEN MW. Immunopathology of tuberculosis - roles of macrophages and monocytes. *Infect Immun* 1996; 64: 683-690.

3. FRIEDLAND JS. Chemotactic cytokines and tuberculosis. *Biochem Soc Trans* 1994; 22: 310-312.
4. TSUYUGUCHI I. Regulation of the immune response in tuberculosis. *Infect Agents Dis* 1996; 5: 82-97.
5. TOOSI Z. Cytokine circuits in tuberculosis. *Infect Agents Dis* 1996; 5: 98-107.
6. BRUNDA MJ. Interleukin-12. *J Leuk Biol* 1994; 55: 280-288.
7. FRUCHT DM, HOLLAND SM. Defective monocyte costimulation for IFN- $\gamma$  production in familial disseminated *Mycobacterium avium*-complex infection - abnormal IL-12 regulation. *J Immunol* 1996; 157: 411-416.
8. COOPER AM, FLYNN JL. The protective immune response to *Mycobacterium tuberculosis*. *Curr Op Immunol* 1995; 7: 512-516.
9. ORME IM, ANDERSEN P, BOOM WH. T cell response to *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis* 1993; 167: 1481-1497.
10. BOOM WH. The role of T-cell subsets in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Infect Agents Dis* 1996; 5: 73-81.
11. WESCH D, KABELITZ D, FRIESE K, PECHHOLD K. Gamma-delta T cell, HIV infection, mycobacteria, Th1 cell, mycobacteria-reactive gamma-delta T cells in HIV-infected individuals - Lack of V- $\beta$ -9 cell responsiveness is due to deficiency of antigen-specific CD4 T helper type 1 cells. *Eur J Immunol* 1996; 26: 557-562.
12. MOSMANN TR, SAD S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 1996; 17: 138-146.
13. BERMÚDEZ LE. Production of transforming growth factor- $\beta$  by *Mycobacterium avium* infected human macrophages is associated with unresponsiveness to IFN- $\gamma$ . *J Immunol* 1993; 150: 1838-1845.
14. GONG JH, ZHANG M, MODLIN RL, et al. Interleukin-10 downregulates *Mycobacterium tuberculosis*-induced Th1 responses and CTLA-4 expression. *Infect Immun* 1996; 64: 913-918.
15. GALLIN JI, FARBER JM, HOLLAND SM, NUTMAN TB. Interferon- $\gamma$  in the management of infectious diseases. *Ann Int Med* 1995; 123: 216-224.
16. ELLNER JJ. Immunosuppression in tuberculosis. *Infect Agents Dis* 1996; 5: 62-72.
17. SÁNCHEZ FO, RODRÍGUEZ JI, AGUDELO G, GARCÍA LF. Immune responsiveness and lymphokine production in patients with tuberculosis and healthy controls. *Infect Immunity* 1994; 62: 5673-5678.
18. LIN YG, ZHANG M, HOFMAN FM, GONG JH, BARNES PF. Absence of a prominent Th2 cytokine response in human tuberculosis. *Infect Immun* 1996; 64: 1351-1356.
19. ROOK GAW, STEELE J, FRAHER L, et al. Vitamin D3, gamma interferon, and control proliferation of *Mycobacterium tuberculosis* by human monocytes. *Immunol* 1986; 57: 159-163.
20. ÁRIAS M, ROJAS M, ZABALETA J, RODRÍGUEZ JI, PARÍS SC, BARRERA LF, GARCÍA LF. Inhibition of virulent *Mycobacterium tuberculosis* by Bcg $^+$  and Bcg $^-$  macrophages correlates with nitric oxide production. *J Infect Dis* 1997; en prensa.

21. ARIAS M, ZABALETA J, RODRÍGUEZ JI, ROJAS M, PARÍS SC, GARCÍA LF. Failure to induce nitric oxide production by human monocyte-derived macrophages. Manipulation of biochemical pathways. *Allergol Immunopathol* 1997; en prensa.

22. MOLLOY A, LAOCHUMROONVORAPONG P, KAPLAN G. Apoptosis, but not necrosis, of infected monocytes is coupled with killing of intracellular bacillus Calmette-Guérin. *J Exp Med* 1994; 180: 1499-1509.

23. GAN H, NEWMAN GW, REMOLD HG. Plasminogen activator inhibitor type 2 prevents programmed cell death of human macrophages infected with *Mycobacterium avium*, serovar 4. *J Immunol* 1995; 155: 1304-1315.

24. ROJAS M, BARRERA LF, PUZO G, GARCÍA LF. Differential induction of apoptosis by virulent *Mycobacterium tuberculosis* in resistant and susceptible murine macrophages: Role of nitric oxide and mycobacterial products. *J Immunol* 1997; 159:1352-1361.