

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA**



**ESTUDIO COMPARATIVO DE RECEPTORES
Y CO-RECEPTORES QUE RECONOCEN PATRONES
MOLECULARES DE MICOBACTERIAS Y VIH
EN PACIENTES INFECTADOS Y CITOCINAS**

POR:

Q.B.P. ADRIAN GEOVANNI ROSAS TARACO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN INMUNOLOGIA**

MONTERREY, N. L., A DICIEMBRE DEL 2002

2002

c.1

2002

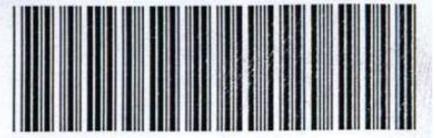
R6

.A26

RC607

TM

Q.B.P. ADRIAN GEOVANNI ROSAS TARACCO



1080116950

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA

MT
RC 29
100
1000

ESTUDIO COMPARATIVO DE RECEPTORES Y CO-RECEPTORES
QUE RECONOCEN PATRONES MOLECULARES DE
MICOBACTERIAS Y VIH EN PACIENTES INFECTADOS

Aprobación de Tesis



Dra. Alma Yola de Mendoza
Directora

ESTUDIO COMPARATIVO DE RECEPTORES
Y CO-RECEPTORES QUE RECONOCEN PATRONES
MOLECULARES DE MICOBACTERIAS Y VIH
EN PACIENTES INFECTADOS Y CITOLINAS

POB:
Dr. Mario César Sergio Carmona
Q.B.P. ADRIAN GIOVANNI ROVAS FAR

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN INMUNOLOGIA

Dr. Dionicio A. Galarza Delgado
Subdirector de Investigación y
Estudios de Posgrado

MONTEPERRIN, R.T.L. A.P. 1000



TM

RC607

.A26

R6

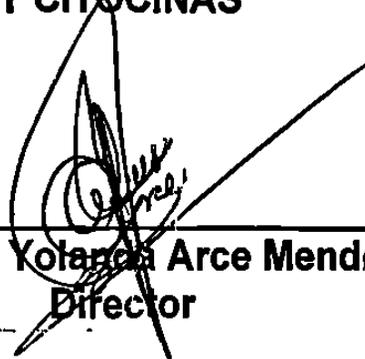
2002



**ESTUDIO COMPARATIVO DE RECEPTORES Y CO-RECEPTORES
QUE RECONOCEN PATRONES MOLECULARES DE
MICOBACTERIAS Y VIH EN PACIENTES INFECTADOS**

Aprobación de Tesis:

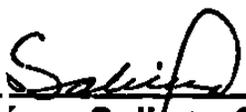
Y CITOCINAS



Dra. Alma Yolanda Arce Mendoza
Director



Dra. Lydia Guadalupe Rivera Moraes
Co-director



Dr. Mario César Salinas Carmona
Miembro de la Comisión



Dr. Dionicio A. Galarza Delgado
Subdirector de Investigación y
Estudios de Posgrado

LUGAR DE TRABAJO

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Inmunoinfectología del Departamento de Inmunología y el Laboratorio de Hematología en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León bajo la dirección de la Dra. Alma Yolanda Arce Mendoza y co-dirección de la Dra. Lydia Gpe. Rivera Morales, así como también, contamos con la colaboración del Dr. Jacobo Ayala (consulta de infectología de la Clínica No. 25 del IMSS) y del Dr. Guillermo Caballero Olín (consulta de epidemiología de la Clínica No. 28 del IMSS).

Se agradece el financiamiento otorgado para la realización de este proyecto a las siguientes instituciones:

PAICYT. Proyecto: SA599-01

PAICYT. Proyecto: SA815-02.

Finalmente, se agradece a **CONACYT** por la beca crédito otorgada.

DEDICATORIA

A DIOS.....

Por protegerme, estar siempre conmigo y por encontrar en él la paz espiritual.

A mi madre María Elena Taraco Reyes.....

Por su gran apoyo en estos pasos de superación y respetar cada una de mis decisiones, pero especialmente por creer en mí (mil gracias).

A Viviana Leticia Mata Tijerina.....

Por tú paciencia y comprensión, por tú gran apoyo incondicional y de pareja en éste camino tan largo y duro por recorrer gracias (N.H.D.T.A.D.).

A mis hermanos Sergio y Alex.....

Por su amistad y apoyo moral y comprensión en los momentos difíciles.

A todos lo que creyeron en mí y especialmente aquellos que no creyeron.....

AGRADECIMIENTOS

Dra. Alma Yolanda Arce Mendoza....

Por darme la oportunidad de formar parte de su laboratorio, por su asesoría y sobretodo la confianza brindada para realizar esta investigación. Una vez un investigador Suizo dijo "el secreto de la investigación, es dejar hacer a los estudiantes investigación apoyando sus decisiones". Gracias por ese apoyo.

Dra. Lydia Guadalupe Rivera Morales....

Por brindarme su confianza, apoyo, por su valiosa asesoría y revisión de éste trabajo. Por sus palabras de aliento y sobretodo por su amistad.

Dr. Mario César Salinas Carmona....

Por aceptarme ser parte del Departamento, por ser un buen maestro y por compartir sus conocimientos y sugerencias en éste proyecto.

Dr. Javier Márfil y Dr. David Gómez Almaguer....

Por permitirme trabajar en su Departamento, facilitándome el citómetro de flujo, haciendo posible la elaboración de esta tesis.

Q.C.B. Nereida Méndez Ramírez....

Por su ayuda brindada, sus palabras de aliento y por compartir sus conocimientos en citometría de flujo, incondicionalmente, para llevar a cabo la elaboración de esta tesis.

Q.C.B. Rosario Salazar....

Por compartir sus conocimiento, sus palabras de apoyo y su muestra de superación haciendo agradable mi estancia en el Laboratorio de Hematología.

Dr. Guillermo Caballero Olín....

Por su participación tan valiosa y el apoyo con los pacientes en este proyecto, donde con el mismo interés, concordamos con la problemática actual del país, haciendo así una colaboración entre clínicos e investigadores.

Dr. Jacobo Ayala....

Por su participación en esta área de investigación, facilitándonos los pacientes de su consulta.

Dra. Herminia Martínez....

Por tan amable trato y recibimiento en el posgrado, por su preocupación por cada uno de los alumnos, haciendo segura y agradable nuestra estancia en esta Institución.

Dr. Jesús Ancer Rodríguez....

Por su preocupación en esta nueva era de la Facultad, de la Universidad y del país, impulsando y apoyando la investigación científica en las instalaciones de esta facultad.

A todos los Maestros de Tronco Común....

Por su enseñanzas, sus experiencias y por la transmisión de conocimientos, los cuales fueron y serán de utilidad siempre.

A todos los Maestros de la Especialidad....

Dra. Alma Yolanda Arce Mendoza, Dr. Carlos E. Medina de la Garza, Dra. Ángeles Castro Corona y al Dr. Mario César Salinas Carmona.

A todo el Departamento de Inmunología....

M.C. Isabel Pérez, Q.F.B. Alejandra Gallegos, Dr. Solís, Dr. Ernesto Torres, Q.C.B. Edith Pequeño, Alejandro, Lissy, Araceli, Brenda, Camelita, Frank, Carlitos, Reynaldo, Santana, Paty, Dra. Velia, Dra. Jaquie.

A todos los compañeros y amigos del Posgrado....

Angélica, Ariana, Blanca, Luis Miguel, Marcela, Teresa, especialmente, a Graciela y Lorena. A mis compañeros y amigos del Posgrado con especialidad en Inmunología a Marisol, Isabel, Ángeles, especialmente a Lupita de la Cruz y Juan Manuel Zúñiga.

INDICE DE CONTENIDO

PORTADA	I
COMISIÓN DE TESIS	II
LUGAR DE TRABAJO	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTOS	V
ÍNDICE DE CONTENIDO	VIII
INDICE DE FIGURAS	X
INDICE DE TABLAS	XII
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA	XIII
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. ANTECEDENTES	6
IV. JUSTIFICACIÓN	30
V. HIPÓTESIS	31
VI. OBJETIVO GENERAL	32
VII. ESTRATEGIA GENERAL	33
VIII. MATERIAL Y MÉTODOS	34
8.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN DE INDIVIDUOS	34
8.2 EXTRACCIÓN DE SANGRE VENOSA Y CONTEO DE LEUCOCITOS	34
8.2 ANÁLISIS POR CITOMETRÍA DE FLUJO	35
8.3.1. INCUBACIÓN CON ANTICUERPOS MONOCLONALES	35

8.3.2. ADQUISICIÓN Y ANÁLISIS DE LA MUESTRA	36
8.4 ANÁLISIS INMUNOABSORBENTE LIGADO A ENZIMAS (ELISA)	36
8.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	37
IX. RESULTADOS	38
9.1 CARATERÍSTICAS GENERALES DE LOS GRUPOS	38
9.2 EXPRESIÓN DE RECEPTORES/CO-RECEPTORES EMPLEADOS POR MICROBACTERIAS Y VIH EN LA REGIÓN DE LINFOCITOS.	40
9.3 EXPRESIÓN DE RECEPTORES/CO-RECEPTORES EMPLEADOS POR MICROBACTERIAS Y VIH EN LA REGIÓN DE MONOCITOS/GRANULOCITOS.	47
9.4 ANÁLISIS INMUNOABSORBENTE LIGADO A ENZIMAS (ELISA).	54
X. DISCUSIÓN	62
XI. CONCLUSIONES	69
XII. PERSPECTIVAS A FUTURO	71
XIII. BIBLIOGRAFÍA	72

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	DESCRIPCIÓN	PAG
1.	Papel de las citocinas en la infección por micobacterias.	10
2.	Supresión de la respuesta inmune a la infección por micobacterias.	11
3.	Epidemiología global de TB y número de casos recientes hasta el año 2000.	17
4.	Papel de las citocinas y quimiocinas en la replicación viral.	23
5.	Tropismo del virus de la inmunodeficiencia humana A) virus T-trópico y B) virus M-trópico.	25
6.	Epidemiología global del VIH/SIDA hasta el año 2000.	29
7.	Dot plot donde se señala las regiones para el análisis de receptores/co-receptores.	41
8.	Porcentaje de células e IMF con que se expresan CD11c y CD40 en pacientes con TB en la región de linfocitos.	42
9.	Porcentaje de células e IMF con que se expresan CCR5 y CXCR4 en pacientes con TB en la región de linfocitos.	43
10.	Porcentaje de células e IMF con que se expresan CD11c y CD40 en pacientes infectados con VIH en la región de linfocitos.	44
11.	Porcentaje de células e IMF con que se expresan CCR5 y CXCR4 en pacientes infectados con VIH en la región de linfocitos.	45
12.	Porcentaje de células e IMF con que se expresan CD11c y CD14 en pacientes con TB en la región de monocitos/granulocitos.	48
13.	Porcentaje de células e IMF con que se expresan CD40 y CCR5 en pacientes con TB en la región de monocitos/granulocitos.	49

14.	Porcentaje de células e IMF con que se expresan CXCR4 en pacientes con TB en la región de monocitos/granulocitos.	50
15.	Porcentaje de células e IMF con que se expresan CD11c en pacientes infectados con VIH en la región de monocitos/granulocitos.	50
16.	Porcentaje de células e IMF con que se expresan CD14 y CD40 en pacientes infectados con VIH en la región de monocitos/granulocitos.	51
17.	Porcentaje de células e IMF con que se expresan CCR5 y CXCR4 en pacientes infectados con VIH en la región de monocitos/granulocitos.	52
18.	Producción de IL-1 β en sueros de controles y pacientes.	55
19.	Producción de IL-6 en sueros de controles y pacientes infectados.	56
20.	Producción de TNF- α en suero de controles y pacientes infectados.	57
21.	Producción de RANTES en suero de controles y pacientes infectados.	59
22.	Producción de IL-8 en suero de controles y pacientes infectados.	60

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	DESCRIPCIÓN	PÁG
1.	Estimación global de la incidencia y mortalidad de TB en 1990.	16
2.	Influencia de la infección por VIH y la infección con <i>M. tuberculosis</i> .	20
3.	Incidencia de TB y números de casos en personas VIH-positivos por región hasta 1997.	28
4.	Características generales de los grupos.	39
5.	Comparación del porcentaje de células positivas e IMF para cada uno de los receptores / co-receptores en la región de linfocitos.	46
6.	Comparación del porcentaje de células positivas e IMF para cada uno de los receptores / co-receptores en la región de monocitos/granulocitos.	53
7.	Producción de citocinas y quimiocinas en suero de controles y pacientes infectados con VIH y TB.	61

ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

CD.....	Grupo de diferenciación.
VIH.....	Virus de la Inmunodeficiencia Humana.
TB.....	Tuberculosis.
IMF.....	Intensidad Media de Fluorescencia.
TBMDR.....	Tuberculosis multidrogoresistente.
TBP.....	Tuberculosis pulmonar.
TBEP.....	Tuberculosis extrapulmonar.
ELISA.....	Análisis Inmuno-Absorbente Ligado a Enzimas.
IL.....	Interleucina.
α	Alfa.
β	Beta.
γ	Gamma.
TNF- α	Factor de Necrosis Tumoral-alfa.
CXCR.....	Receptor de la familia de las α -quimiocinas.
CCR.....	Receptor de la familia de las β -quimiocinas.
RANTES.....	T normal expresada y secretada regulada por activación.
%.....	Porcentaje.
SIDA.....	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.
INF.....	Interferón.
Th.....	Células T cooperadoras.
gp.....	Glicoproteína.

TGF- β	Factor de crecimiento tumoral-beta.
MCP-1.....	Proteína quimiotáctica del monocito-1.
GRO.....	Péptido relacionado con el crecimiento.
MIP-1 y 2.....	Proteína inflamatoria del macrófago-1 y 2.
IP.....	Proteína inducida por interferón gamma.
MIG.....	Monocina inducida por interferón gamma.
SDF.....	Factor derivado de células estromales.
Fc.....	Fracción cristalizable.
IgG.....	Inmunoglobulina G.
μ m.....	Micrómetro.
<i>et al.</i>	Colaboradores.
MDM.....	Macrófagos derivados de monocitos.
LAM.....	Lipoarabinomanana.
BCG.....	Bacilo de Calmete-Guerin.
Células NK.....	Células asesinas naturales.
CMSP.....	Células mononucleares de sangre periférica.
CR.....	Receptor de complemento.
CHO.....	Células de ovario de hámster chino.
DNAC.....	Ácido desoxiribonucleico complementario.
kDa.....	Kilodaltones.
PMN.....	Polimorfonucleares.
Acm.....	Anticuerpos monoclonales.
TNF-R.....	Receptor de factor de necrosis tumoral.

CD40L.....	Ligando de CD40.
OMS.....	Organización Mundial de la Salud.
ml.....	Mililitro.
μl.....	Microlitro.
CMA.....	Complejo <i>Micobacterium avium</i> .
CDC.....	Centro de control de enfermedades.
M-CSF.....	Factor estimulador de colonias de macrófago.
GM-CSF.....	Factor estimulador de colonias de granulocitos-monocitos.
h.....	Horas.
PGSIDA.....	Programa global de SIDA.
°C.....	Grados Celsius.
PPD.....	Proteína Purificada de <i>M. tuberculosis</i> .
min.....	Minuto.
rpm.....	Revoluciones por minuto.
cat.	Catalogo.