

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE MEDICINA



**EFFECTO DE MEDIADORES INMUNOLOGICOS EN LA  
PRODUCCION DE CITOCINAS POR MACROFAGOS  
INFECTADOS CON *Nocardia brasiliensis***

**Por**

**M. en C. JUAN MANUEL ZUÑIGA DE JESUS**

**Como requisito parcial para obtener el Grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en Inmunología**

**Octubre 2004**

TD  
QR185  
.8  
.M3  
Z8  
2004  
c.1



1080118369

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE MEDICINA  
EFECTO DE MEDIADORES INMUNOLÓGICOS EN LA  
PRODUCCIÓN DE CITOCINAS POR MACRÓFAGOS  
INFECTADOS CON *Nocardia brasiliensis*

5005  
88  
57  
27190  
TV

Aprobación de Tesis:



Dr. Mario Estrada García  
Director de Tesis

Dra. Iris Estrada García  
Co-directora de Tesis

EFECCIÓN DE MEDIADORES INMUNOLÓGICOS EN LA  
PRODUCCIÓN DE CITOCINAS POR MACRÓFAGOS  
INFECTADOS CON *Nocardia brasiliensis*

Dra. Alma Victoria Arce Mendoza  
Asesora de Tesis

Por

M. en C. JUAN MANUEL ZURIGA DE JESUS  
Comisión de Tesis

Como requisito parcial para obtener el Grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en Inmunología

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

Octubre 2004



TD

DR 185

. 8

. M 3

Z 8

2004



FONDO  
TESIS DOCTORADO

**EFFECTO DE MEDIADORES INMUNOLÓGICOS EN LA  
PRODUCCIÓN DE CITOCINAS POR MACRÓFAGOS  
INFECTADOS CON *Nocardia brasiliensis***

**Aprobación de Tesis:**



---

**Dr. Mario César Salinas Carmona**  
Director de Tesis



---

**Dra. Iris Estrada García**  
Co-director de Tesis



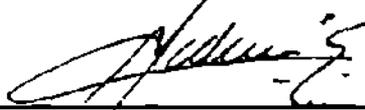
---

**Dra. Alma Yolanda Arce Mendoza**  
Comisión de Tesis



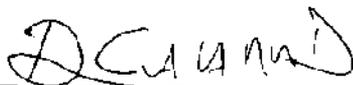
---

**Dra. Agnes Revol de Mendoza**  
Comisión de Tesis



---

**Dr. Carlos E. Medina de la Garza**  
Comisión de Tesis



---

**Dr. Dionicio A. Galarza Delgado**  
Subdirector de Investigación y Estudios de Postgrado

## **LUGAR DE TRABAJO**

Este trabajo se realizó en el Departamento de *Inmunología* de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León y en el Laboratorio de *Inmunología* del Instituto Politécnico Nacional de la Ciudad de México, bajo la dirección del Dr. Mario César Salinas Carmona y co-dirección de la Dra. Iris Estrada García.

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

PAICYT UANL Proyecto SA 593-01

PAICYT UANL Proyecto SA 668-02

Finalmente expreso agradecimientos a CONACYT por la beca-crédito otorgada, así como a la Facultad de Medicina por todo su valioso apoyo.

## DEDICATORIA

*Este es tan sólo un ínfimo tributo de amor paterno para ti Tea, por darme día y noche esa fuerza espiritual y perseverancia para construir mis sueños y sobreponerme a las adversidades.*

*A Milena Avonedro, porque enriqueciste mi mundo con tus maravillosos escritos y esa semilla espiritual que crece en mí.*

*Con amor para mi bebita Milena Andrea, quien en honor a su predecesora de nombre, desde muy temprana edad muestra ya su firmeza de carácter e inconformidad contra lo establecido.*

## AGRADECIMIENTOS

A mi madre Ana María de Jesús Briones por su infinito amor materno y fe en mi capacidad para llevar a cabo mis metas; a mi hermana Ma. Margarita Zúñiga de Jesús por su incondicional e infinito apoyo y confidencialidad otorgados a mi persona y sin los cuales mi vida cotidiana y académica nunca hubieran adquirido la seguridad que ahora les caracteriza.

Gracias al Dr. Mario César Salinas Carmona por su dirección, consejos y, no en último lugar, por permitirme expresar mi propio estilo y opinión en la escritura de la tesis.

Mi gratitud a la Dra. Iris Estrada por ser una excelente maestra y co-directora; más aún, le estoy agradecido por haber sido afortunado de robarle un poquito de su afable y jovial atención que tanto la caracteriza!!!

Mi amor sincero a mi compañera Jacqueline Cadena Sarmiento por todo el apoyo invaluable para concluir este trabajo, y también por su estoicismo mostrado frente a mi difícil carácter en los momentos más críticos (que no fueron pocos!)

Agradezco mucho a las personas que me alentaron en forma sincera durante mi recorrido hacia el Doctorado. Mi humilde, pero enorme gratitud para el Q.B.P. Andrés Mendiola y el MC Adrián Rosas, quienes fueron un gran apoyo moral, logístico y "estadístico" para la elaboración de esta tesis. Gracias sinceras a Francisco Moreno Esparza, por su calor humano mostrado en todo momento hacia mi persona.

Expreso a la Dra. Herminia Martínez Rodríguez, secretaria académica de Subdirección y Estudios de Postgrado de la Facultad de Medicina, mi más sincero y profundo agradecimiento por sus consejos, apoyo humano y académico que fui afortunado en recibir en momentos complicados y decisivos, brindándome una gran bocanada de aliento positivo y fe.

Mi gratitud completa para Sergio y Diana Cárdenas Cadena por su apoyo "pedagógico", sin el cual no hubiera logrado concluir este trabajo.

Un agradecimiento muy especial al Profesor Cesáreo Guzmán Flores, quien a mi llegada a México en 1998 era director de la Facultad de Agronomía de la UANL y brindó su apoyo y confianza a un desconocido búlgaro-mexicano; gracias por sus palabras de aliento y amistad sincera. Desde luego, mi reconocimiento a la intervención casi "divina" de mi hermano Gustavo Zúñiga para lograr establecer contacto con Cesáreo!!!

Gracias a los miembros de mi comisión de tesis, maestros, y compañeros de Postgrado que, a través de sus consejos y críticas constructivas, contribuyeron a mejorar la calidad de mi trabajo.

Pido disculpas por no mencionarlos personalmente a cada uno, pero Ustedes saben muy bien que son tantas personas a las que debo un "granito" de este enorme trabajo físico, anímico y aún moral por la convicción de llevar a su término "algo" que no sólo deseaba tanto hacer, sino que también sentía poder realizarlo con calidad. Espero no haberlos defraudado!!!

# ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
Portada	I
Aprobación de tesis	II
Lugar de trabajo	III
Dedicatoria	IV
Agradecimientos	V
Índice de contenido	VI
Índice de figuras	IX
Índice de tablas	XI
Abreviaturas y simbología	XII
Resumen	XVI
<b>1. ANTECEDENTES</b>	<b>1</b>
1.1 Unicelularidad o Multicelularidad – lucha y unidad dialéctica de contrarios	1
1.2 Respuesta inmune innata y adquirida	3
1.3 Heterogeneidad y renovación de macrófagos	4
1.4 Moléculas CD y TLR	5
1.5 Fagocitosis	7
1.6 Rutas de internación de partículas	7
1.6.1 Vías de internación de Mtb en macrófagos	8
1.6.2 Vías de entrada de otros microparásitos intracelulares	9
1.7 Adhesión	10
1.8 Receptores para el componente Fc de la inmunoglobulina G	10
1.8.1 FcγRs activadores	11
1.8.2 FcγRs inhibidores	12
1.9 Inmunoglobulinas intravenosas	13
1.10 Maduración del fagosoma	15
1.11 Inhibición de la maduración fagolisosomal	15
1.12 Citocinas	17
1.13 Citocinas proinflamatorias	19
1.13.1 Interleucina-1	20
1.13.2 Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF-α)	21
1.14 Citocinas anti-inflamatorias	23
Interleucina-10	23
1.15 Granulomas	24
1.15.1 Formación de granulomas – un fenómeno multifactorial	26
A. Factor cuerda	26
B. IFN-γ	27
C. IL-10	27
D. Células T	28
1.16 Macrófagos activados en forma alternativa	28
1.17 <i>Nocardia brasiliensis</i>	32
1.18 Hipótesis	37

1.19	Objetivo General	37
1.20	Objetivos Especificos	37
<b>2.</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>38</b>
2.1	Estrategia general	38
2.2	Ratones	38
2.3	Preparación de las dosis infectantes de <i>N. brasiliensis</i> HUJEG-1 en diferentes etapas de crecimiento	38
2.3.1	<i>Nocardia brasiliensis</i> en etapa de crecimiento logarítmica	40
2.3.2	<i>Nocardia brasiliensis</i> en etapa de crecimiento estacionaria	40
2.4	Reto/infección de macrófagos	40
2.4.1	Obtención, purificación de macrófagos peritoneales no inducidos y su infección con <i>N. brasiliensis</i>	40
2.4.2	Viabilidad celular	41
2.4.3	Tinción de esterasa no específica y fagocitosis	41
2.4.4	Enfrentamiento entre nocardias opsonizadas y macrófagos	42
2.4.4.1	Nocardias opsonizadas con anticuerpos policlonales anti- <i>N. brasiliensis</i>	42
2.4.4.2	Nocardias opsonizadas con anticuerpos monoclonales anti-P61	42
2.4.5	Pretratamiento de macrófagos con anticuerpos policlonales anti- <i>N. brasiliensis</i>	43
2.5	Electroforesis en condiciones nativas, sin SDS ni $\beta$ -ME, del extracto celular de <i>N. brasiliensis</i>	43
2.6	Tinción de Coomassie	44
2.7	Inmunoelctrotransferencia (IET) del extracto celular crudo de <i>N. brasiliensis</i> y revelado con sobrenadante de hibridomas o suero anti- <i>Nocardia</i>	44
2.8	Muestreo de cultivos macrofágicos	45
2.9	Reacción de Transcripción Reversa con Reacción en Cadena de Polimerasa (RT-PCR)	45
2.10	Análisis estadístico	46
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>47</b>
3.1	Reto de macrófagos con <i>N. brasiliensis</i>	54
3.1.1	IL-12	54
3.1.2	IFN- $\gamma$	68
3.1.3	TNF- $\alpha$	69
3.1.4	IL-10	71
3.1.5	IL-1	73
3.2	Efecto de anticuerpo monoclonales y policlonales anti- <i>Nocardia</i> sobre la producción de citocinas macrofágicas	74
3.2.1	Pretratamiento de macrófagos con anticuerpos policlonales anti- <i>Nocardia</i>	74
3.2.2	<i>N. brasiliensis</i> opsonizada con anticuerpos monoclonales anti-P61	83
3.2.3	<i>N. brasiliensis</i> opsonizada con anticuerpos policlonales anti- <i>Nocardia</i>	87

<b>4. DISCUSIÓN</b>	91
4.1 Fase virulenta y avirulenta de microorganismos	91
4.2 Efectos de la dosis bacteriana	92
4.3 Tiempos cortos de experimentación	93
4.4 IL-12 e IFN- $\gamma$	96
4.5 TNF- $\alpha$	101
4.6 IL-1 $\beta$	108
4.7 IL-10	110
4.8 Efecto de anticuerpos anti- <i>Nocardia brasiliensis</i> sobre la producción de citocinas macrofágicas	116
<b>5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS</b>	123
5.1 Conclusiones	124
5.2 Perspectivas	125
<b>TABLAS</b>	126
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	131
<b>APÉNDICES</b>	154
APÉNDICE A.- Técnicas	154
APÉNDICE B.- Evaluación estadística de M $\phi$ s no infectados vs células infectadas con nocardias en fase exponencial o estacionaria	158
APÉNDICE C.- Evaluación estadística de M $\phi$ s infectados con diferentes dosis de <i>N. brasiliensis</i>	159
APÉNDICE D.- Evaluación estadística de M $\phi$ s infectados con nocardias en fase log vs estacionaria	160
APÉNDICE E.- Evaluación estadística de M $\phi$ s pretratados con anticuerpos anti- <i>Nocardia</i>	161

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Unidad de fenómenos biológicos a través de la aplicación de algoritmos comunes.....	2
2. Algunos fenómenos biológicos en los que intervienen citocinas como moléculas reguladoras decisivas.....	18
3. Competencia entre las enzimas Sintasa de Oxido Nítrico y Arginasa en el metabolismo de L-arginina.....	29
4. Estrategia general experimental.....	39
5. Macrófagos peritoneales no inducidos cultivados <i>in vitro</i> en ausencia de suero. Microscopía de luz con contraste de fase.....	47
6. Prueba de funcionalidad fagocítica de macrófagos peritoneales no inducidos. Microscopía de luz con contraste de fase.....	48
7. Positividad de macrófagos peritoneales para tinción de esterasa no específica. Microscopía de luz.....	49
8. PAGE del extracto celular de <i>Nocardia brasiliensis</i> .....	49
9A Inmunoelctrotransferencia del extracto celular de <i>N. brasiliensis</i> .....	50
9B Patrón electroforético de ARN total aislado de macrófagos peritoneales de ratón BALB/c.....	50
10. Titulación de $[Mg^{2+}]$ para las condiciones de PCR usando cebadores para $\beta$ -actina.....	51
11. RT-PCR de ARNs mensajeros para citocinas en macrófagos peritoneales infectados con <i>N. brasiliensis</i> .....	52
12. Expresión relativa de ARNm para IL-10 a través de RT-PCR y su traducción proteica (secreción) por M $\phi$ s infectados con una dosis alta de <i>N. brasiliensis</i> en fase estacionaria.....	53
13. Secreción y transcripción de IL-12 por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> en fase estacionaria.....	55
14. Secreción y transcripción de IFN- $\gamma$ por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> en fase estacionaria.....	56
15. Secreción y transcripción de IL-12 por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> en fase exponencial.....	58
16. Secreción y transcripción de IL-1 $\beta$ por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> en fase estacionaria.....	59
17. Secreción y transcripción de IL-1 $\beta$ por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> en fase exponencial.....	60
18. Secreción y transcripción de IL-10 por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> en fase estacionaria.....	61
19. Secreción y transcripción de IL-10 por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> en fase exponencial.....	62
20. Secreción y transcripción de TNF- $\alpha$ por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> en fase estacionaria.....	63
21. Secreción y transcripción de TNF- $\alpha$ por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> en fase exponencial.....	64

22. Secreción y transcripción de IFN- $\gamma$ por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> en fase exponencial.....	65
23. Producción de citocinas por M $\phi$ s peritoneales pretratados con Acs policlonales anti- <i>N. brasiliensis</i> e infectados con una dosis media.....	75
24. Producción de citocinas por M $\phi$ s peritoneales pretratados con Acs policlonales anti- <i>N. brasiliensis</i> e infectados con una dosis alta.....	76
25. Transcripción de IL-12 e IFN- $\gamma$ en M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> opsonizada con Ac monoclonal anti-P61.....	77
26. Transcripción de TNF- $\alpha$ e IL-1 $\beta$ en M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> opsonizada con Ac monoclonal anti-P61.....	78
27. Transcripción de IL-10 en M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> opsonizada con Ac monoclonal anti-P61.....	79
28. Transcripción de IL-12 e IFN- $\gamma$ en M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> opsonizada con Acs policlonales anti- <i>N. brasiliensis</i> .....	80
29. Transcripción de TNF- $\alpha$ e IL-1 $\beta$ en M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> opsonizada con Acs policlonales anti- <i>N. brasiliensis</i> .....	81
30. Transcripción de IL-10 en M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> opsonizada con Acs policlonales anti- <i>N. brasiliensis</i> .....	82
31. Secreción de IL-12 por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> * opsonizada con Ac monoclonal anti-P61.....	83
32. Secreción de IFN- $\gamma$ y TNF- $\alpha$ por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> opsonizada con Ac monoclonal anti-P61.....	84
33. Secreción de IL-1 $\beta$ e IL-10 por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> opsonizada con Ac monoclonal anti-P61.....	85
34. Secreción de IL-12 e IFN- $\gamma$ por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> opsonizada con Acs policlonales anti- <i>N. brasiliensis</i> .....	88
35. Secreción de TNF- $\alpha$ e IL-1 $\beta$ por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> opsonizada con Acs policlonales anti- <i>N. brasiliensis</i> .....	89
36. Secreción de IL-10 por M $\phi$ s peritoneales de ratón BALB/c expuestos a <i>N. brasiliensis</i> opsonizada con Acs policlonales anti- <i>N. brasiliensis</i> .....	90
37. Escenario hipotético de infección de M $\phi$ s con una dosis infecciosa inicial baja de <i>N. brasiliensis</i> en fase de crecimiento exponencial (virulenta).....	121
38. Efecto hipotético de complejos inmunes <i>N. brasiliensis</i> -acs. anti- <i>Nocardia</i> sobre la producción de citocinas macrofágicas.....	122

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
1. Producción de citocinas por macrófagos infectados con diferentes dosis de <i>N. brasiliensis</i> en fase de crecimiento estacionaria.....	127
2. Producción de citocinas por macrófagos infectados con diferentes dosis de <i>N. brasiliensis</i> en fase exponencial.....	128
3. Producción de citocinas por macrófagos expuestos a complejos inmunes <i>N. brasiliensis</i> -anticuerpos anti-P61.....	129
4. Producción de citocinas por macrófagos expuestos a complejos inmunes <i>N. brasiliensis</i> -anticuerpos anti- <i>Nocardia</i> .....	130
5. Producción de citocinas por macrófagos pretratados con anticuerpos policlonales anti- <i>Nocardia</i> .....	131

## ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

%	Por ciento
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\gamma$	Gamma
$\kappa$ B	Proteína inhibidora del factor NF $\kappa$ B
aa	Aminoácidos
Ac(s)	Anticuerpo(s)
ADCC	Citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos
ADN	Ácido desoxirribonucleico
APCs	Célula(s) Presentadora(s) de Antígenos
ARNr	Ácido ribonucleico ribosomal
ASB	Albúmina Sérica Bovina
AMPc	Monofosfato de adenosina cíclico
Aprox.	Aproximadamente
Arg-1	Arginasa 1
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido desoxirribonucleico mensajero
ASHS	Antígeno soluble de huevos de Schistosoma
ATCC	Colección americana de cultivos tipo
BCG	Bacilo de Calmette-Guérin
BCR	Receptor de célula B
BHI	Medio infusión cerebro-corazón
bp	Pares de bases
C	Componente del complemento
C-C	Quimiocinas beta con residuos de cisteína-cisteína
CD	Grupo de diferenciación
CI <sub>s</sub>	Complejos inmunes
CGM	Célula gigante multinucleada
Con-A	Concanavalina A
Conc.	Concentración
CR	Receptor de complemento
C-X-C	Quimiocinas alfa con residuos cisterna-X-cisteína, donde X es cualquier aminoácido
DAG	Diacilglicerol
DEPC	Dietilpirocarbonato
DMT	Dimicolato de trehalosa
E	Eritrocitos
ELISA	Prueba de inmunoabsorción ligada a enzimas
et al.	Y colaboradores
FasL	Ligando de Fas
Fc	Fragmento Fc de <i>inmunoglobulinas</i>
FHA	Fitohemaglutinina

g	Gravedad
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos
GPLs	Glucopéptidolípidos
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de oxígeno
hIL	Interleucina humana
IVIG	Inmunoglobulina(s) intravenosa(s)
HLA	Antígeno leucocitario humano
HUJEG-1	Hospital Universitario José Eleuterio González
i.v.	Intravenoso
ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular 1
IFN	Interferón
Igs(s)	Inmunoglobulina(s)
IL	Interleucina
IL-ra	Antagonista del receptor de IL-1
IP10	Proteína inducible de interferón $\gamma$
IP <sub>3</sub>	1,4,5-trifosfato de inositol
ITAM	Motivo de activación basado en inmunoreceptor de tirosina
ITIM	Motivo de inhibición basada en inmunoreceptor de tirosina
IVIG	Inmunoglobulinas intravenosas
Kb	Kilobases
K <sub>D</sub>	Coefficiente de disociación
kDa	Kilodaltones
KO	Knockout
LAM	Lipoarabinomanano
I.F.A	Antígeno relacionado con la función leucocitaria
LHG	Lisozima de huevo de gallina
LIF	Factor inhibidor de leucemia
Log	Logaritmo; logarítmico(a)
LPS	Lipopolisacárido
LT	Leucotrieno
M	Moles
MHC	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
M $\phi$	Macrófago
M-2	Macrófago activado Tipo 2
MAB(s)	Anticuerpo(s) monoclonal(es)
Mac-1	Integrina CD11b/CD18
ManLAM	Lipoarabinomanano-manosa
MCP-1	Proteína quimioattractante de monocitos 1
M-CSF	Factor estimulante de colonias de macrófagos
MDMs	Macrófagos derivados de monocitos
mIL	Interleucina de ratón
MIP	Proteína inflamatoria de macrófagos
ml	Mililitro
MMLVRT	Transcriptasa reversa del virus Moloney de la leucemia murina
MOI	Multiplicidad de infección
MR	Receptor para manosa

N	Normalidad
NADPH	Fosfato de dinucleótido de adenina nicotinamida reducido
NF- $\kappa$ B	Factor nuclear $\kappa$ B
ng	Nanogramo
NK	Célula asesina natural
NO	Óxido nítrico
NOS2	Óxido nítrico sintasa 2
O <sub>2</sub>	Oxígeno
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Anión superóxido
PAF	Factor activador de plaquetas
PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida
PAMP	Patrones Moleculares Asociados a Patógenos
PBMC	Células mononucleares de sangre periférica
PCR	Reacción en Cadena de Polimerasa
pg	Picogramo
PG	Prostaglandina
pH	$-\log[H^+]$ Potencial de hidrógeno
p.i.	Postinfección
pI	Punto isoelectrónico
PI3K	Fosfatidilinositol 3(OH)-cinasa
PIM	Manosida de fosfatidilinositol
PIP <sub>2</sub>	Fosfatidilinositol-(4,5)-bifosfato
PIP <sub>3</sub>	1,4,5-trifosfato de inositol
PPD	Derivado proteínico purificado de tuberculina
PtdIns[3]P	Fosfatidilinositol-3-fosfato
PTK	Proteína tirosina cinasa
R	Receptor
Raf	Cinasa Raf
RANTES	Quimiocina regulada bajo activación, normalmente expresada y secretada por células T
rpm	Revoluciones por minuto
RIA	Radioinmunoanálisis
RNI	Compuestos reactivos del nitrógeno
ROI	Compuestos reactivos del oxígeno
RT-PCR	Transcripción inversa conjugada con la reacción en cadena de polimerasa
s.c.	Subcutáneo(a)
SCID	Inmunodeficiencia Severa Combinada
SEB	Enterotoxina estafilocócica B
SH2	Región 2 de homología de Src
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
SOCS	Supresores de la señalización mediada por citocinas
SOD	Superóxido dismutasa
Sp-A	Proteína surfactante pulmonar A
SR	Receptor soluble
Stat	Transductores de la señal y activadores de transcripción
TCR	Receptor de célula T

TGF- $\beta$	Factor de transformador del crecimiento
Th0	Linfocito T precursor
Th1	Linfocito T cooperador de tipo 1
Th2	Linfocito T cooperador de tipo 2
TLR	Receptor tipo Toll
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
U	Unidades
UFC	Unidades formadoras de colonias
VCAM-1	Molécula de adhesión celular vascular 1
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
VSR	Virus Sincitial Respiratorio

# RESUMEN

Juan Manuel Zúñiga de Jesús

Fecha de Graduación: Octubre, 2004

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Medicina

**Título del Estudio: EFECTO DE MEDIADORES INMUNOLÓGICOS EN LA PRODUCCIÓN DE CITOCINAS POR MACRÓFAGOS INFECTADOS CON *Nocardia brasiliensis***

Número de páginas: 161

Candidato para el grado de Doctorado en Ciencias con especialidad en Inmunología

Área de Estudio: Inmunología

**Propósito y Método del Estudio:** Las citocinas son glicoproteínas con funciones inmunológicas fundamentales, que se producen en forma dinámica durante la interacción macrófago-parásito, reflejando así el balance neto del proceso infeccioso. En el presente trabajo se analizó la secreción *in vitro* de citocinas por el macrófago con la técnica de ELISA y la presencia de sus respectivos ARN-mensajeros por medio de RT-PCR, en respuesta a diversas dosis de *Nocardia brasiliensis* ATCC 700358 en fase de crecimiento exponencial (virulenta) o estacionaria (avirulenta), así como en presencia de anticuerpos anti-*N. brasiliensis*.

**Contribuciones y Conclusiones:** Estos resultados determinaron el efecto de la combinación de dos parámetros de *N. brasiliensis* sobre la producción de citocinas macrofágicas *in vitro*, así como sobre la expresión relativa de sus ARNs celulares mensajeros. Se evidenció un efecto diferencial de *N. brasiliensis* ATCC 700358 con respecto a la secreción de citocinas, ya que, a diferencia de la fase de crecimiento estacionaria (avirulenta), la fase exponencial (virulenta) en su dosis baja es excelente inductor de IL-10. Por otro lado, evidenciamos un singular efecto inhibitorio del microorganismo en ambas fases de crecimiento sobre la producción de TNF- $\alpha$ , aunque éste fue más perceptible para la fase exponencial. Además, la dosis baja de nocardias en ambas fases de crecimiento y en cualquiera de las tres dosis utilizadas en nuestros experimentos, resulta ser un pobre inductor de las citocinas estudiadas. Por último, la supresión de secreción de citocinas macrofágicas y sus respectivos ARNs mensajeros por complejos *N. brasiliensis*-acs. anti-*Nocardia* pudiera ser una explicación parcial al ya descrito efecto inocuo o aún deletéreo de anticuerpos anti-*Nocardia* durante el proceso infeccioso.

FIRMA DEL ASESOR:

