

## Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

Volumen **18**  
Volume

Número **2**  
Number




Abril-Junio **2005**  
April-June

*Artículo:*




Componentes glicosilados de la  
envoltura de *Mycobacterium  
tuberculosis* que intervienen en la  
patogénesis de la tuberculosis

Derechos reservados, Copyright © 2005:  
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

Otras secciones de  
este sitio:

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

*Others sections in  
this web site:*

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)

# Componentes glicosilados de la envoltura de *Mycobacterium tuberculosis* que intervienen en la patogénesis de la tuberculosis

PATRICIA GOROCICA\*  
MARÍA DEL CARMEN JIMÉNEZ-MARTÍNEZ†  
YONATHAN GARFIAS‡  
ISABEL SADA\*  
RICARDO LASCURAIN§

\* Departamento de Bioquímica, INER  
† Instituto de Oftalmología "Fundación Conde de Valenciana"  
‡ Dpto. de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM.  
§ Trabajo recibido: 27-IX-2004; aceptado: 01-IV-2005

## RESUMEN

142 Los componentes glicosilados de la envoltura de *Mycobacterium tuberculosis* tienen un papel impor-

**Palabras clave:** *Mycobacterium tuberculosis*, inmunopatogénesis de tuberculosis, glicoconjugados de micobacteria.

**Key words:** *Mycobacterium tuberculosis*, immunopathogenesis of tuberculosis, mycobacterial glycoconjugates, saccharide molecular characteristics.

tante en la inmunopatogénesis de la tuberculosis. Permiten la adhesión, penetración y persistencia de la micobacteria en el macrófago; de igual manera, participan en los mecanismos de activación de estas células y la producción de citocinas relevantes durante la respuesta inmune. En esta revisión, examinamos las características de las principales estructuras sacarídicas de la superficie de la micobacteria y su relación con la modulación de la respuesta inmune.

## ABSTRACT

The glycosylated compounds of *Mycobacterium tuberculosis* envelope play an important role in the immunopathogenesis of tuberculosis. These molecules are involved in the binding to the host cell surface followed by their internalization and persistence in macrophages; likewise they take part in the macrophage's activation and the production of cytokines that are relevant during the immune response against mycobacteria. In this review we examine the molecular characteristics of the main mycobacterial cell surface saccharide structures and their relation with the modulation of the immune response to tuberculosis.

## INTRODUCCIÓN

Mundialmente la tuberculosis es una de las principales enfermedades infecciosas por su alto impacto en la salud, lo que ocasiona pérdidas millonarias<sup>1</sup>. La tuberculosis pulmonar es causada por el bacilo aerobio no esporulado, *Mycobacterium tuberculosis*, que reside princi-

palmente en el fagolisosoma de los macrófagos alveolares. Las micobacterias pertenecen al orden de los actinomicetales (bacterias con forma de hongos) y son consideradas formas de transición entre las eubacterias (bacterias verdaderas) y los hongos<sup>2</sup>.

La mayor parte de los componentes estructurales de las micobacterias son de naturaleza sa-

carídica y son reconocidos por diversos receptores en macrófagos y otros tipos celulares, como los linfocitos T<sup>3-5</sup>. Algunas de estas estructuras moleculares de las micobacterias también son responsables de los mecanismos de evasión de la respuesta inmune del hospedero, pues son capaces de inhibir o interferir con los mecanismos microbicidas del macrófago infectado<sup>6-8</sup>.

Las micobacterias pueden ser opsonizadas con moléculas de complemento (C3b), inmunoglobulinas (IgG), proteína de unión a manosas (MBP), así como por el factor surfactante A (SP-A); esto ayuda a la bacteria a ingresar al macrófago de manera eficiente<sup>6</sup>. Las micobacterias opsonizadas con IgG se unen a receptores para el Fc de las inmunoglobulinas (FcR $\gamma$ ), y esta vía de entrada desencadena una respuesta más agresiva en contra de ellas<sup>9</sup>.

El hábitat intracelular confiere ventajas importantes a las micobacterias porque quedan protegidos de mecanismos efectores de la respuesta inmune del hospedero, como la lisis por complemento; además, las características estructurales de su envoltura les proporcionan resistencia a agentes microbicidas, fármacos y a la destrucción por calor<sup>2</sup>. El establecimiento de la infección también depende de la interacción inicial entre los componentes de superficie de las micobacterias con los receptores de la célula hospedera. Para infectar al macrófago las micobacterias se valen de algunos receptores para componentes glicosilados<sup>3</sup>.

Al utilizar receptores como el CR3, la entrada de las micobacterias patógenas puede inhibir mecanismos microbicidas del macrófago, como el estallido respiratorio, de tal manera que, esta interacción inicial resulta crítica en la patogénesis de la tuberculosis y en la persistencia de la bacteria en el interior de la célula hospedera<sup>10,11</sup>.

En esta revisión se hace particular énfasis en la importancia que tienen los carbohidratos en las interacciones entre *Mycobacterium tuberculosis* y los elementos de la respuesta inmune de hospedero.

## CARACTERÍSTICAS DE LA ENVOLTURA

La envoltura de *Mycobacterium tuberculosis* es una estructura compleja, constituida por cápsu-

la, pared celular y membrana plasmática<sup>12</sup>. La cápsula es la capa externa de la envoltura de las micobacterias y sirve de protección contra múltiples factores externos. Por tanto, tiene una interacción directa con los elementos de la respuesta inmune<sup>11</sup>. Sus características y composición varían en las diferentes especies y cepas de micobacterias. Entre los principales componentes se encuentran el ácido micólico y glicolípidos; estos glicolípidos junto con algunas proteínas son responsables de las características antigénicas de la bacteria<sup>12,13</sup>.

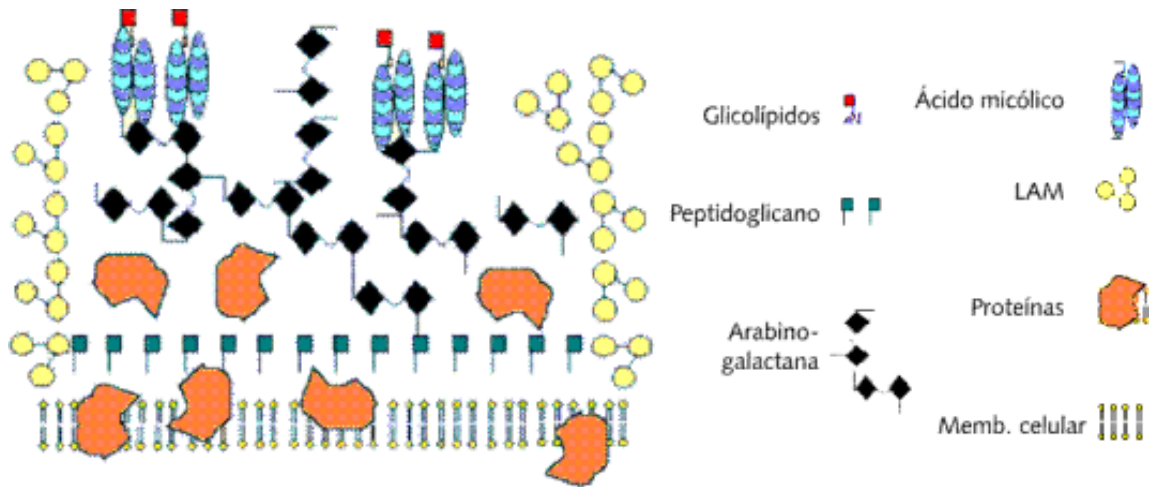
La pared micobacteriana se localiza por debajo de la cápsula separada por un espacio periplásmico, posee un elevado contenido en lípidos (50-60%) que le confieren un carácter hidrofóbico y la hace refractaria al ataque por hidrólisis enzimática<sup>9</sup>. Es una efectiva barrera frente a muchos de los agentes antimicrobianos convencionales<sup>12</sup> y está constituida por el complejo macromolecular formado por ácidos micólicos-arabinogalactano-peptidoglucano (mAGP)<sup>14</sup>.

Los ácidos micólicos son ácidos grasos complejos de gran importancia taxonómica para micobacterias y bacterias de géneros relacionados como *Nocardia* y *Corinebacterium*; en el caso de las micobacterias, los ácidos micólicos tienen de 70-80 carbonos y se les atribuye el carácter hidrofóbico de la envoltura<sup>13</sup>.

La membrana celular tiene las características biológicas y bioquímicas de cualquier membrana, aunque en las micobacterias los derivados de los fosfolípidos se caracterizan por estar altamente glicosilados dando lugar a moléculas como la lipoarabinomanana (LAM), que tienen un papel fundamental en la patogénesis de la tuberculosis<sup>12</sup> (Figura 1).

## COMPONENTES ESTRUCTURALES QUE CONTIENEN EL DISACÁRIDO TREHALOSA

Las micobacterias presentan una gran diversidad de estructuras glicosiladas complejas con enlace de tipo O-glicosídico. Algunos de estos glicoconjugados son de importancia estructural como el peptidoglucano (PG) y los polisacáridos. El primero es una molécula estructural y el segundo protege a la bacteria de la lisis por el complemento<sup>15</sup>.



**Figura 1.** Representación esquemática de la pared celular de *M. tuberculosis*. La bacteria está envuelta dentro de una bicapa lipídica típica de membrana citoplasmática que permanece debajo del peptidoglicano rígido (PG). Cierta número de proteínas se encuentran en asociación con PG y entre la membrana, los PG y algunas de ellas pueden ser inmunogénicas.

Los componentes mayoritarios de la envoltura de las micobacterias son lípidos asociados a carbohidratos (glicolípidos), fosfolípidos glicosilados o carbohidratos complejos sustituidos con ácido micólico o péptidos. Las porciones glicosiladas de estas moléculas son importantes en la interacción con los componentes de la respuesta inmune innata y específica del hospedero<sup>16</sup>. En las células eucariotas los glicolípidos, participan en mecanismos de comunicación celular, pero en los microorganismos se les considera factores de virulencia<sup>15</sup>.

Se estima que el 25% del peso seco de las micobacterias corresponde a lípidos o glicolípidos; el 40% de ellos son moléculas de ácidos micólicos unidos al disacárido trehalosa, que es un disacárido de  $\alpha$ -D-glucosa formado por residuos de  $\alpha$ -D-glucopiranosil (1-1)- $\alpha$ -glucopiranososa. La trehalosa es un antígeno presente en numerosas moléculas de micobacterias y existen varias moléculas que contienen este disacárido, las cuales se clasifican en micolatos de trehalosa y sulfolípidos de trehalosa<sup>17</sup>.

**Micolatos de trehalosa.** Son ácidos micólicos unidos a una trehalosa, cuando están acetilados constituyen parte de la trehalosa dimicolato (TDM) o factor cuerda o parte del ftiocerol dimicocerosato (DIM)<sup>17</sup>.

**Factor cuerda (trehalosa 6,6- dimicolato).** Molécula mixta que se encuentra en la capa periférica de la envoltura. Es abundante en todas las micobacterias patógenas. Recibe ese nombre porque en los cultivos, los microorganismos forman agregados semejantes a cordones. Esta molécula presenta pequeñas variaciones en ciertos grupos químicos, las que son características en las diversas especies de micobacterias y cepas<sup>2</sup>. El factor cuerda está formado por un complejo de tres macromoléculas: peptidoglicano (PG), arabinogalactano (AG) y micolatos. En condiciones normales, el factor cuerda estimula la actividad de la enzima que hidroliza al dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADasa) en el hospedero, lo que trae como consecuencia la disminución en la cantidad de la coenzima NAD<sup>18</sup>. Esta coenzima es común en las reacciones catabólicas de óxido reducción, y la ausencia de NAD interrumpe la cadena respiratoria en la mitocondria de las células. El factor cuerda es inmunogénico y se ha intentado usarlo en la prevención de la tuberculosis<sup>18,19</sup>; además, su naturaleza química favorece la inflamación crónica y ocasiona la formación de granulomas en el pulmón<sup>10</sup>. La formación del granuloma es producto de una serie de mecanismos de la respuesta inmune que da por resultado una activación y

diferenciación de los macrófagos, mediada principalmente por el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), conteniendo la diseminación de la bacteria<sup>20</sup>. El factor cuerda también se ha asociado a la inhibición de la fusión de los lisosomas con los fagosomas en los macrófagos, fenómeno que se considera clave para la supervivencia de *M. tuberculosis* en estas células<sup>11</sup>.

**DIM.** Molécula que contiene trehalosa, es un ácido graso de 35 carbonos y tiene sustituciones con grupos metilos y dos ácidos grasos (ácidos micocerósicos). Esta molécula es característica de las cepas patógenas y forma una barrera que impide la permeabilidad de la envoltura de las micobacterias<sup>9</sup>.

**Sulfolípidos de trehalosa (SL).** Llamados también sulfátidos, son ácidos micólicos unidos al disacárido trehalosa, pero sustituidos por grupos sulfatos. Se localizan en la periferia de la pared celular y parecen ser factores de virulencia. En *Mycobacterium tuberculosis* estos sulfolípidos de trehalosa funcionan como evasinas, es decir, moléculas que facilitan que la bacteria escape a la acción de los macrófagos inhibiendo la fusión del fagosoma con el lisosoma, lo cual puede explicar el éxito como parásitos intracelulares<sup>9,13</sup>. Son responsables de las características de tinción de las micobacterias<sup>13</sup>, y se unen a los receptores "basurero" de clase A (ScR) o "receptores scavenger" en macrófagos, lo que favorece la entrada de la bacteria a la célula hospedera<sup>3</sup>; además, evita la maduración del fagosoma del macrófago cuando está infectado por la micobacteria porque inhiben a la proteína C cinasa (PKT)<sup>11</sup> y como consecuencia de esto, también se ve inhibida la producción de óxido nítrico y de citocinas proinflamatorias<sup>21,22</sup>.

Los glicolípidos con trehalosas acetiladas son abundantes en la cápsula de las micobacterias y se clasifican en: fenoglicolípidos (PGL), glicopeptidolípidos (GLP) y lipooligosacáridos (LOS)<sup>9</sup>. El PGL tiene una porción sacarídica altamente inmunogénica y está presente en las cepas patógenas de micobacterias. Estas moléculas le proporcionan propiedades antigénicas en la cápsula de *M. tuberculosis* y se asocian con la patogénesis de la tuberculosis; por esa razón se utilizan en el serodiagnóstico de la enfermedad<sup>6,10</sup>.

Los GLP son antígenos muy abundantes en la cápsula, presentan diferencias antigénicas entre especies de micobacterias. Están compuestas por moléculas de fenol-tiocerol esterificado con dos ácidos grasos multiramificados (micocerósico o tioceránico) y, a diferencia de todos los anteriores, los residuos sacarídicos están O-metilados y asociados a la morfología lisa de algunas cepas de micobacterias. Tienen un papel importante en la supervivencia intracelular de las micobacterias. Se ha observado *in vivo* e *in vitro* que los GLP inhiben la proliferación de células mononucleadas estimuladas con mitógenos<sup>10</sup>.

Los LOS son aquellos constituidos por ácidos grasos de cadena larga con un núcleo sacarídico de poliacil trehalosa y un alto contenido de manosa. La cantidad y tipo de residuos de carbohidratos dan lugar a una variedad de LOS cápsular, siendo antigénicamente diferentes<sup>9</sup>. Estas diferencias en los residuos sacarídicos tienen valor taxonómico y diagnóstico<sup>19</sup>.

## COMPONENTES CON ALTO CONTENIDO DE MANOSA

Las micobacterias presentan gran variedad de formas glicosiladas derivadas de fosfolípidos como fosfatidil inositol<sup>23</sup>. Los fosfolípidos son ácidos grasos con un ácido fosfatídico, se encuentran de manera abundante en la estructura de todas las membranas biológicas, pero también pueden formar parte de moléculas con funciones biológicas definidas como lo fosfatidilinositolmanósidos (PIM) y LAM<sup>24</sup>. El fosfatidil-inositol (PI) es un fosfolípido derivado del CPC-diacilglicerol y del mio-inositol, que en muchos microorganismos está unido por enlaces covalentes a diversas glicoproteínas de superficie<sup>25</sup>. Existen diferentes moléculas de PI con residuos de manosas y otros carbohidratos como la arabinosa. Los PIM tienen muchos residuos de manosas y son precursores de la LAM, molécula que es de uno de los componentes principales de la membrana micobacteriana<sup>24</sup>.

La estructura general de LAM presenta una región común para todas las especies de micobacterias, con ligeras variaciones en la parte glicosilada específica en cada cepa y especie de micobacteria<sup>23</sup>. La estructura de la molécula consta de varias partes: un núcleo sacarídico

(NS) central, común para todas las especies de micobacterias, compuesto por unidades repetitivas de D-manana y D-arabinana, con ligeras variaciones entre especies; este núcleo sacarídico está anclado a una molécula de fosfatidil-mio-inositol. Algunos residuos de carbohidratos del núcleo sacarídico están ramificados, formando dominios terminales conocidos como "capping motif" o dominios terminales, los cuales son especie específicos<sup>23</sup> (Figura 2). Esta estructura terminal difiere, son ramificaciones que parten de residuos arabinosa del núcleo sacarídico, desiguales en cada una de las especies y cepas de micobacterias; las regiones terminales se han asociado a las características de crecimiento y virulencia<sup>23,24</sup>, y son las responsables de múltiples respuestas del sistema inmunológico. Existen dos estructuras terminales en la LAM de las micobacterias, una con residuos de manosa (mano-oligosacárido) por lo que se le ha denominado ManLAM, que está asociada a especies y cepas patógenas, y la segunda estructura carece de residuos de manosa terminal y en su lugar contienen una molécula de PI y una arabinosa, por lo que se le ha denominado AraLAM o PIMLAM,

asociada principalmente a especies y cepas no patógenas, con crecimiento rápido en cultivo<sup>23</sup>.

### COMPONENTES RICOS EN ARABINOSA Y GALACTOSA

El disacárido arabinogalactana (AG)<sup>14</sup>, es un antígeno presente en varias macromoléculas de bacterias relacionadas taxonómicamente. En las bacterias del orden de los actinomicetales como las micobacterias, representa cerca del 35% de la composición de su pared celular<sup>3</sup>. La AG está compuesta por los azúcares D-galactofuranosa y D-arabinofuranosa, que son raros en la naturaleza (Figura 3). Este disacárido es necesario para la formación del PG de la pared de la bacteria<sup>14</sup>. El PG se encuentra en la pared de todas las bacterias y su principal función es proteger a los microorganismos de la lisis osmótica. Las características estructurales del PG lo hacen altamente inmunogénico, lo que le permite interactuar con elementos del sistema inmune y formar parte de los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP)<sup>19</sup> a través de receptores con patrones específicos de reconocimiento (PRR) en macró-

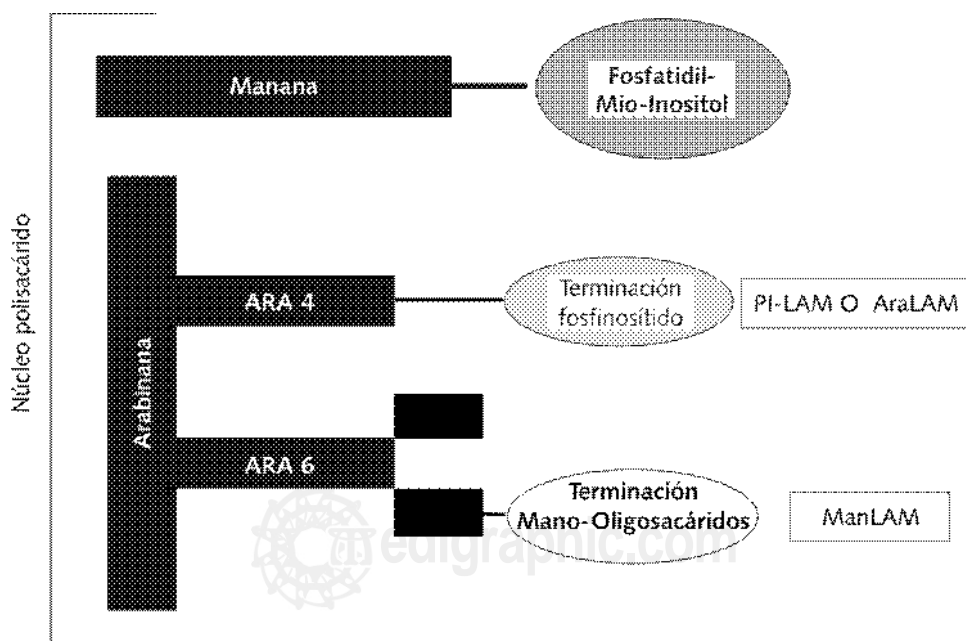


Figura 2. Estructura general de LAM. Características de la estructura terminal de ManLAM y de PI-LAM (AraLAM).

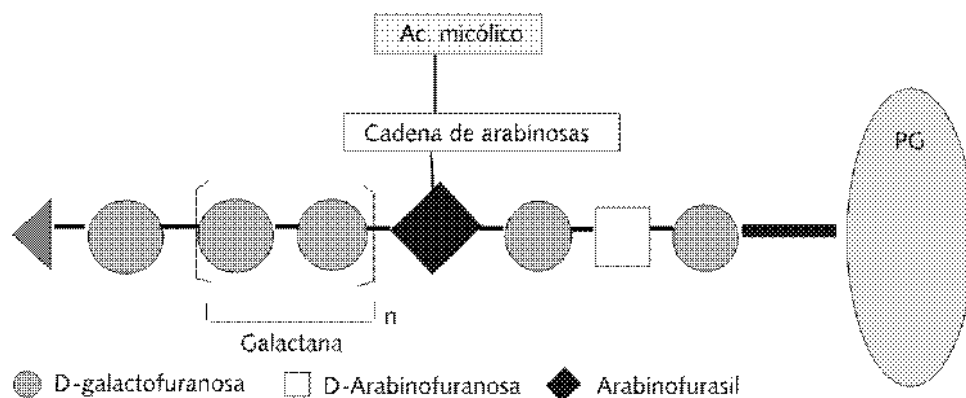


Figura 3. Estructura general de la arabinogalactana (AG).

fagos, como son los receptores tipo Toll (TLR), receptor de manosa (RM) y receptor *scavenger* o basurero<sup>3</sup>.

El PG consiste en un polímero de aminoazúcares y un tetrapéptido unidos de manera covalente. El polímero de aminoazúcares está formado por residuos repetitivos de N-acetil glucosamina (GlcNAc) unidos a residuos de ácido murámico. Este polímero sacarídico está unido a su vez a un tetrapéptido formado por L-alanina-D-isoglutaminil-meso-diaminopimelil-D-alanina (L-Ala-D-glu-A2pm-D-Ala) y a moléculas de ácido micólico<sup>25</sup>, dando lugar al complejo mAGP<sup>19</sup> (Figura 4). La biosíntesis del complejo mAGP se lleva a cabo por etapas utilizando 13 enzimas autorreguladas. Algunas de las enzimas que participan en la biosíntesis del complejo se han inhibido con fármacos como la fosfomicina. El estudio de estas enzimas es importante para el desarrollo de nuevos fármacos contra las micobacterias<sup>14</sup>.

### RELEVANCIA DE LOS GLICOCONJUGADOS DE LA MICOBACTERIA EN LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA

La mayoría de los componentes glicosilados de las micobacterias tienen un alto contenido de manosa, glucosa y galactosa, permitiendo la realización de una interacción con diversos receptores fagocíticos tipo lectina en el macrófago<sup>3,16</sup> (Tabla I). Las estructuras terminales de las moléculas son las que directamente tienen interacción con los re-

ceptores en células fagocíticas. Los dominios terminales ricos en manosa de la LAM son importantes en la unión de la micobacteria con receptores del macrófago como el receptor de manosa (RM), a los TRL 2 y 4, CR3 y el DEC 205<sup>26, 27</sup>.

Las diversas LAM activan vías de señalización diferentes y, por tanto, pueden inducir un amplio espectro de funciones<sup>28</sup> y activar o inhibir mecanismos efectores de la respuesta inmune para controlar o perpetuar la infección<sup>23,29</sup>.

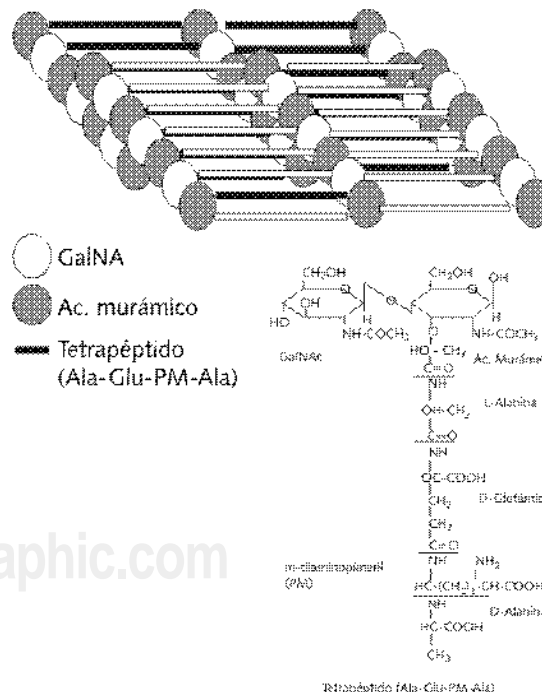


Figura 4. Estructura general del peptidoglicano PG.

**Tabla I.** Moléculas de origen lipídico de *M. tuberculosis* asociadas a la patogenia de la tuberculosis.

Glicolípido	Respuesta inmune del huésped	Patogénesis	Otras funciones
Peptidoglicano	Es antigénica y tiene patrones de reconocimiento para receptores fagocíticos.	Protege a la micobacteria, lisis por cambios osmóticos y por lisozima	Estructural, forma la pared celular
Ácido micólico	Evita la destrucción de micobacterias por mecanismos microbicidas del macrófago.	Forman una barrera impermeable que impide el acceso de sustancias hidrofílicas y fármacos	Es estructural y forma parte del mAGP en pared celular
Derivados del Ac. Micólico			
a) Factor cuerda	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inmunomodulador</li> <li>• Toxina con actividad tumorocida</li> </ul>	Induce la producción de TNF en macrófagos y formación de granulomas	Es estructural en cápsula
b)SL	Activan neutrófilos y son antígenos de superficie	Bloquean el efecto de IFN gamma, IL-1 y TNF $\alpha$ en macrófagos e inhibe PKT. Inhiben la fusión del fagosoma con el lisosoma en macrófagos. Inhibición de la PKT	Antígeno soluble de cápsula
LOS	Antígeno de superficie	Participa en la unión de la micobacteria con los receptores del macrófago.	Estructural en cápsula. Tiene valor taxonómico.
GPL	Induce TNF- $\alpha$ y PGE2 en macrófagos	Inhibe respuesta linfoproliferativa	Antígeno de superficie de cápsula
PGL	Activa complemento	Inhibe respuesta linfoproliferativa y estallido respiratorio en macrófagos Inhibe PKT	Antígeno estructural de cápsula
Derivados de PI PIM	Activan inmunidad específica de células NKT. Son presentados por CD1	Los PIM intervienen activamente en la interacción de la micobacteria con el macrófago y son precursores de LAM.	Son exclusivos de actinomicetales y se encuentran en la membrana
LAM	Es inmunomodulador y es presentado por CD1	Activa células T vía TRL y CD1	Tiene un gran espectro de funciones
AraLAM	Activa mecanismos microbicidas dependientes de TNF $\alpha$	Inhibición de PKT	LAM sin manosa terminal asociada a cepas no patógenas
ManLAM	Se une al RM, CD14	Induce TNF- $\alpha$ y producción de granuloma. Inhibición de PKT. Inhibe producción de citocinas proinflamatoria	LAM con manosa terminal, en cepas patógenas
PIMLAM o AraLAM	Se une a TLR-2	Induce la producción de citocinas proinflamatorias	

**Abreviaturas:** Sulfolípido de trehalosa (SL); Lipooligosacáridos (LOS); Glicopeptidolípidos (GPL); Fenolglícolípidos (PGL); Fosfatidil-inositol (PI); Fosfatidilinositolmanosidos (PIM); Lipoarabinomanana (LAM); Lipoarabinomanana con residuos terminales en manosa (ManLAM); Lipoarabinomanana sin residuos terminales de manosa (AraLAM); Receptores tipo *Toll* (TLR).



Las cepas *M. tuberculosis* virulentas como la H37Rv, que presentan ManLAM, utilizan el RM junto con los receptores de complemento CR1, CR3 y CR4 para internalizarse en el macrófago y las cepas no virulentas como la H37Ra que presentan AraLAM, utilizan solamente el RM<sup>26,30</sup>. El uso simultáneo de ambos receptores confiere ventajas a la bacteria, pues no se activa la enzima NADPH oxidasa por lo que no se produce el estallido respiratorio<sup>5,30</sup>. Además, la entrada de la micobacteria evita que se activen las señales que dan origen a la maduración fagosoma<sup>27,31</sup>. Esto es una estrategia que permite al microorganismo vivir en el interior del macrófago<sup>28,32</sup>.

El uso de estos receptores como vía de entrada para el microorganismo está limitado, porque, en ausencia de reacción inflamatoria, el CR3 de macrófagos solamente participa en la unión de las micobacterias, pero no en la fagocitosis<sup>30,33</sup> y el RM sólo se expresa en macrófagos maduros, tanto alveolares como tisulares, pero no en monocitos sanguíneos<sup>34</sup>. El papel del CR3, también conocido como CD11b/CD18, es importante cuando hay reacción inflamatoria porque tiene dos dominios, uno para el reconocimiento de C3b y C3bi presente en la superficie de microorganismos opsonizados con estas moléculas; el otro es tipo lectina, que interactúa con moléculas con manosas presentes en la envoltura de la micobacteria<sup>3,33</sup>.

En *M. tuberculosis* existe una hemaglutinina recientemente descrita, que se une a la heparina (HbhA) y a algunos glicoconjugados, tales como sulfato de dextrán, pero no se une a fibronectina. Esta proteína se une a C3 y tiene un papel multifuncional en la entrada de la micobacteria a la célula hospedera vía CR3<sup>35</sup>. Las cepas avirulentas de micobacterias que presentan AraLAM pueden activar mecanismos microbicidas en los macrófagos e inducir la secreción de citocinas con efectos proinflamatorios como TNF- $\alpha$ , el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) que activa monocitos y neutrófilos en el sitio de la infección<sup>36,37</sup>; además, induce la producción de interleucinas relacionadas con la activación de la respuesta inmunológica innata como IL-1a, IL-1b e IL-6<sup>38,39</sup>.

Las moléculas que poseen manooligosacáridos terminales parecen desempeñar un papel

importante en la inhibición del TNF- $\alpha$  e IL-12 en células dendríticas y en macrófagos, pero incrementan la producción de GM-CSF y de IL-10<sup>40</sup>. El GM-CSF y la IL-10 favorecen la prevalencia de la infección; la primera estimula la producción de granulocitos y células mononucleares precursoras de los macrófagos, los cuales son las células hospederas de las micobacterias, mientras que la IL-10 disminuye la respuesta inmune del hospedero<sup>36</sup>. La IL-10 inhibe la producción de otras citocinas como IL-12 y TNF- $\alpha$  también inhibe la expresión de moléculas coestimuladoras y moléculas MHC clase II en el macrófago, por lo que los macrófagos se ven limitados en su función como células presentadoras de antígeno<sup>41</sup>. Una de las principales funciones de la IL-12 es inducir la diferenciación de los linfocitos T CD4 a células efectoras Th1. Esta población Th1 está directamente asociada con el control de las infecciones intracelulares, por lo que la ausencia de esta subpoblación también favorece la prevalencia de la infección<sup>41</sup>. La IL-12 junto con la IL-18 estimulan la respuesta adaptativa o específica, además activan a las células asesinas naturales (NK)<sup>42</sup>. Las NK activadas son buenas productoras de IFN- $\gamma$ ; esta citocina, junto con el TNF- $\alpha$  son indispensables para que los macrófagos activen la enzima óxido nítrico sintetasa para la producción del óxido nítrico (ON), que es uno de los mecanismos microbicidas más eficientes contra la micobacteria<sup>43</sup>.

La AraLAM junto con el IFN- $\gamma$  sinergiza para la producción de ON en ausencia de TNF- $\alpha$ , en cambio ManLAM requiere de ambas citocinas. Esto es una ventaja para las cepas que contienen ManLAM porque sobreviven con mayor facilidad en el interior del macrófago que las cepas que expresan AraLAM<sup>43</sup>. Asimismo, induce la sobreexpresión de CD14 en macrófagos, receptor importante para encender las vías de señalización en la producción de citocinas proinflamatorias<sup>23,44</sup>, además de funcionar como receptor fagocítico para la internalización de la bacteria<sup>45</sup>. El CD14 en macrófagos activados con LAM requiere de la participación conjunta con el RM para producir una respuesta eficiente y la interacción de ambos receptores evitan la señalización dada por los TLR<sup>44</sup>.

La interacción de manosas terminales del ManLAM con receptores de manosa del macró-

fago inhiben la producción de IL-12, cuando estos han sido activados con algún estímulo previo e inducen la producción de la citocina antiinflamatoria TGF- $\beta$ , por lo que ManLAM puede contribuir a la persistencia de *M. tuberculosis* al inducir la activación de la tirosina fosfatasa 1 (SHP-1), lo que promueve la desfosforilación de múltiples proteínas, incluyendo las MAP cinasas involucradas en la señalización de IL-12<sup>42</sup>. La ManLAM no activa a la célula por los TLR, por lo que se limita la producción de citocinas proinflamatorias<sup>3,42</sup>.

Los macrófagos activados por el CD14 o el TLR activan la señalización hacia la activación de la I $\kappa$ B cinasas para fosforilar al factor inhibidor de NF- $\kappa$ B llamado I $\kappa$ B y liberar al factor de transcripción NF- $\kappa$ B, responsable de la expresión de diversos genes para producción de citocinas proinflamatorias<sup>46</sup>. Este factor, generalmente, se encuentra inactivo en el citoplasma hasta que se genera la cascada de señales iniciada por la LAM<sup>47</sup>.

La ManLAM induce la translocación del factor nuclear N-BF-1 en macrófagos, el cual es un homodímero de NF- $\kappa$ B que puede bloquear la unión del NF- $\kappa$ B y consecuentemente, la producción de IL-12<sup>42</sup>.

Moléculas con fosfatidil inositol como la lipomanana (LM), la lipoarabinomanana (LAM) y el fosfatidil-inositol manosido (PIM) también tienen efectos similares en la activación de las células, debido a que inducen la transcripción del mRNA para algunas citocinas y suprimen la proliferación de linfocitos T activados por antígenos<sup>18</sup>. Además, los PIM interfieren el tráfico vesicular durante la maduración del fagosoma<sup>24</sup>.

Algunos glicolípidos de la pared celular de la micobacteria pueden ser exportados desde el fagosoma inmaduro hasta el exterior de las células infectadas por medio de exocitosis, y así ser transportados hacia las células vecinas<sup>48</sup>. Esto permite tener una respuesta inmune más eficiente, aun cuando los macrófagos infectados no puedan funcionar eficientemente como células presentadoras de antígenos (CPA). De esta forma, es como algunos glicolípidos micobacterianos también pueden entrar en contacto con las moléculas CD1 de otras células y amplificar la respuesta inmune<sup>49</sup>.

La captura de LAM soluble por células presentadoras de antígeno (CPA), como los macrófagos o células dendríticas, también es un proceso mediado por el receptor de manosa, pero que no participa en el procesamiento intracelular de los antígenos micobacterianos<sup>27</sup>. Los antígenos micobacterianos, principalmente la LAM, son llevados a los endosomas y pueden seguir la vía de presentación para antígeno exógeno y asociarse a moléculas de MHC para la presentación de antígenos proteicos hacia linfocitos T. Los antígenos de naturaleza lipídica que son derivados del PI como los PIM, LAM y los ácidos micólicos y sulfátidos (SL) son presentados por una molécula análoga al MHC denominada CD1<sup>50</sup>. Las porciones lipídicas de la LAM activan a los linfocitos T por medio del CD1b de manera independiente a la vía tradicional del MHC<sup>49,51,52</sup>. Los linfocitos T que reconocen estos antígenos son una población muy pequeña en circulación con marcadores de células NK como el CD161 y ciertas subpoblaciones de linfocitos TCD8 (citotóxicos), con receptor de linfocito T (TcR)  $\alpha\beta$  y los linfocitos T con cadena- $\gamma\delta$ <sup>49,50</sup>. Se ha visto que en pacientes con tuberculosis, esta población celular aumenta considerablemente y se les ha atribuido un papel regulador de la respuesta inmune para el control de la tuberculosis<sup>49,38</sup>. Esta población de linfocitos T con marcadores de células NK puede contribuir a la inmunidad contra la micobacteria, debido a su capacidad para activar células NK clásicas, excelentes productoras de IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ ; estas citocinas refuerzan la respuesta microbicida del macrófago al activar la ONS e incrementan la expresión de moléculas co-estimuladoras en subpoblaciones de linfocitos T (TH2)<sup>53,54</sup>.

La diseminación de la infección es controlada con la formación de granulomas o la activación de la apoptosis de los macrófagos infectados<sup>10</sup>. La ManLAM de micobacterias de cepas patógenas activan la fosfatidil inositol 3-cinasa (PI-3K) lo que promueve la expresión de las moléculas reguladoras de la apoptosis de la familia Bcl, la antiapoptótica Bcl-2 y la proapoptótica Bad; de igual manera, es capaz de inhibir la expresión de la molécula proapoptótica Bax, con lo que se evita la apoptosis del macrófago infectado<sup>55,56</sup>. Las lipoproteínas, como el factor soluble de la

tuberculosis (SFT), también pueden inducir apoptosis en células hospederas y disminuyen o inhiben la expresión del complejo principal de histocompatibilidad tipo II (MHC II)<sup>57,58</sup>.

Los glicoconjugados de micobacterias ricos en manosas pueden interactuar con proteínas séricas como la proteína de unión a manosa (MBP) y el factor surfactante A (SPA). Ambas moléculas funcionan como excelentes opsoninas para macrófagos alveolares, células endoteliales y fibroblastos, porque tienen receptores específicos para ellas<sup>3,6</sup>. Cuando el SPA interactúa con su receptor aumenta la producción de anión superóxido, lo que representa una desventaja para los microorganismos<sup>17</sup>.

Se ha identificado a una familia de receptores denominados receptores de tipo *Toll* o *Toll-like receptors* (TLR). Estos receptores son importantes, tanto en la respuesta innata como en la específica, y son responsables de las primeras señales producidas al estimularse con una gran gama de antígenos<sup>59</sup>. No hay evidencias de que los TLR por sí mismos inicien la fagocitosis, pero definitivamente participan de manera paralela en la generación de señales para que haya englobamiento de los microorganismos<sup>58</sup>. Estos receptores reconocen numerosos ligandos provenientes de patógenos, tales como los LPS, PG, LAM, ácido lipoteicoico, ácidos nucleicos y sulfolípidos<sup>60</sup>. La activación de los macrófagos por el receptor tipo Toll-2 (TLR2) activa el factor nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), responsable de la producción de citocinas para iniciar una respuesta inmune eficiente contra la micobacteria<sup>60</sup>. La activación del macrófago vía TLR6 regula la activación de células estimuladas por moléculas como la lipoproteína conocida como factor soluble de la tuberculosis, el STF y por moléculas de PIM<sup>60, 61</sup>.

Las moléculas polianiónicas como los sulfolípidos de trehalosa (SL) y el SFT pueden ser reconocidas por otro tipo de receptores como los receptores *scavenger* (SR) en los macrófagos, y también en otros tipos celulares como los linfocitos T<sup>62</sup>. Los SR son una familia de receptores que presentan diversas estructuras y pueden tener múltiples ligandos como los LDL (lípidos de baja densidad), fosfatidilserina y componentes polianiónicos; en el caso de las micobacterias

también están involucrados en la invasión de la célula hospedera<sup>63</sup>.

## CONCLUSIÓN

En todos los eventos que llevan al desarrollo de la enfermedad o establecimiento de una respuesta protectora en presencia de micobacterias, están directamente involucradas moléculas provenientes del microorganismo, tanto de tipo estructural como de tipo soluble.

Entre las diversas interacciones, destacan aquellas que se dan principalmente entre los carbohidratos de las moléculas de superficie de las micobacterias con una gran diversidad de receptores en el macrófago. El curso y la gravedad de la infección van a depender de las características estructurales de dichas estructuras moleculares de las micobacterias, como la LAM y el factor cuerda, en las que pequeñas variaciones estructurales en la región sacarídica le confieren diferentes grado de virulencia a las cepas bacterianas. El receptor utilizado para entrar al macrófago y las vías de señalización intracelular activadas posterior a la interacción, también son importantes para dirigir el curso de la respuesta inmune en el organismo, que puede ser eficiente y controlar la infección, o llevar al paciente a la cronicidad. La infección crónica da por resultado el desarrollo de mecanismos tipo hipersensibilidad tipo IV o tardía caracterizados por la formación granulomas, y en muchas ocasiones con un mal pronóstico para el paciente. Por un lado, el granuloma y la activación de la apoptosis de los macrófagos infectados son mecanismos que evitan la diseminación de las micobacterias; por el otro, la persistencia de las micobacteria en el hospedero se debe a los mecanismos de evasión a la respuesta inmune otorgados por la presencia de estructuras moleculares, ya sean estructurales o solubles de las micobacterias, tanto a nivel de la respuesta innata como de la respuesta inmune específica.

## REFERENCIAS

1. Bloom BR, Murray CJ. *Tuberculosis: commentary on a reemerging killer*. Science 1992;257:1055-1064.

2. Wolinsky E. *Mycobacterium*. En: Davis B, Dubblecco R, Eisen H, Ginisber H, editores. *Tratado de microbiología*. 3ra ed. México: Salvat;1990.p.589-604.
3. Ernst JD. *Macrophage receptors for Mycobacterium tuberculosis*. Infect Immun 1998; 66:1277-1281.
4. Zimmerli S, Edwards S, Ernst JD. *Selective receptor blockade during phagocytosis does not alter the survival and growth of Mycobacterium tuberculosis in human macrophages*. Am J Respir Cell Mol Biol 1996;15:760-770.
5. Schlesinger LS. *Macrophage phagocytosis of virulent but not attenuated strains of Mycobacterium tuberculosis is mediated by mannose receptors in addition to complement receptors*. J Immunol 1993;150:2920-2930.
6. Fenton MJ, Vermeulen MW. *Immunopathology of tuberculosis: roles of macrophages and monocytes*. Infect Immun 1996;64:683-690.
7. Schlesinger LS. *Role of mononuclear phagocytes in M. tuberculosis pathogenesis*. J Investig Med 1996;44:312-323.
8. Schorey JS, Carroll MC, Brown EJ. *A macrophage invasion mechanism of pathogenic mycobacteria*. Science 1997;277:1091-1093.
9. Draper P. *The outer parts of the mycobacterial envelope as permeability barriers*. Front Biosci 1998;3:1253-1261.
10. Besra GS, Chatterjee J. *Lipids and carbohydrates of Mycobacterium tuberculosis*. In: Bloom BR, editor. *Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control*. Washington, DC: ASM Press;1994.p.285-306.
11. Warwick JB, Paul W, Winter N. *Mechanisms of persistence of mycobacteria*. Trends Microbiol 1994;2:284-288.
12. Brennan PJ. *Structure of mycobacteria: recent developments in defining cell wall carbohydrates and proteins*. Rev Infect Dis 1989;11 Suppl 2:420-430.
13. Steck PA, Schwartz MS, Rosendhal G, Gray R. *Mycolic acids: a reinvestigation*. J Biol Chem 1978;253:5625-5709.
14. Crick DC, Mahapatra S, Brennan PJ. *Biosynthesis of the arabinogalactan-peptidoglycan complex of Mycobacterium tuberculosis*. Glycobiol 2001;11:107R-118R.
15. Varki A, Cumming R, Esko J, Freeze H, Hart G, Marth J. Editors, *Bacterial polysaccharides*. In: *Essential of glyco-biology*. NY: Cold Spring Harbor Press;1999.p.321-332.
16. Ehlers MR, Daffe M. *Interactions between Mycobacterium tuberculosis and host cells: are mycobacterial sugars the key?* Trends Microbiol 1998;6:328-335.
17. Schabbing RW, Garcia A, Hunter RL. *Characterization of the trehalose 6,6'-dimycolate surface monolayer by scanning tunneling microscopy*. Infect Immun 1994;62:754-756.
18. Vergne I, Daffe M. *Interaction of mycobacterial glycolipids with host cells*. Front Biosci 1998;3:d865-d876.
19. Brennan PJ, Nikaido H. *The envelope of mycobacteria*. Annu Rev Biochem 1995;64:29-63.
20. Barnes PF, Chatterjee D, Abrams JS, Lu S, Wang E, Yamamura M, et al. *Cytokine production induced by Mycobacterium tuberculosis lipoarabinomannana. Relationship to chemical structure*. J Immunol 1992;149:541-547.
21. St-Denis A, Caouras V, Gervais F, Descoteaux A. *Role of protein kinase C in the control of infection by intracellular pathogens in macrophage*. J Immunol 1999;163:5505-5511.
22. Tan SL, Parker PJ. *Emerging and diverse roles of protein kinase C in immune cell signalling*. Biochem J 2003;376(Pt 3):545-552.
23. Varcellone A, Nigou J, Puzo G. *Relationships between the structure and the roles of lipoarabinomannans and related glycoconjugates in tuberculosis pathogenesis*. Front Biosci 1998;3:149-163.
24. Brennan PJ. *Structure, function, and biogenesis of the cell wall of Mycobacterium tuberculosis*. Tuberculosis (Edinb) 2003;83:91-97.
25. Mathews CH, van Holde K, Ahern K. *Metabolismo lipídico II. Lípidos de membrana, esteroides, isoprenoides y eicosanoides*. En: Mathews CH, van Holde K, Ahern K, editores. *Bioquímica*. 3ra ed. Madrid: Pearson Educación;2002.p.747-788.
26. Schlesinger LS, Hull SR, Kaufman TM. *Binding of the terminal mannosyl units of lipoarabinomannan from a virulent strain of Mycobacterium tuberculosis to human macrophages*. J Immunol 1994;152:4070-4079.
27. Sthal PD, Ezekowitz RA. *The mannose receptor is a pattern recognition receptor involved in host defense*. Curr Opin Immunol 1998;10:50-55.
28. Schlesinger LS, Kaufman TM, Lyer S, Hull SR, Marchiando LK. *Differences in mannose receptor-mediated uptake of lipoarabinomannan from virulent and attenuated strains of Mycobacterium tuberculosis by human macrophages*. J Immunol 1996;157:4568-4575.
29. Riedel DD, Kaufmann SH. *Differential tolerance induction by lipoarabinomannan and lipopolysaccharide in human macrophages*. Microbes Infect 2000;2:463-471.
30. Cywes C, Hoppe HC, Daffe M, Ehlers MR. *Nonopsonic binding of Mycobacterium tuberculosis to complement receptor type 3 is mediated by capsular polysaccharides and is strain dependent*. Infect Immun 1997;65:4258-4266.
31. Astarie-Dequeker C, N'Diaye EN, Le Cabec V, Ritting MG, Prandi J, Maridonneau-Parini I. *The mannose receptor mediates uptake of pathogenic and nonpathogenic mycobacteria and bypasses bactericidal responses in human macrophages*. Infect Immun 1999;67:469-477.
32. Schlesinger LS. *Entry of Mycobacterium tuberculosis into mononuclear phagocytes*. Curr Top Microbiol Immunol 1996;215:71-96.
33. Schlesinger LS, Bellingier-Kawahara CG, Payne NR, Horwitz MA. *Phagocytosis of Mycobacterium tuberculosis is mediated by human monocyte complement receptors and complement component C3*. J Immunol 1990;144:2771-2780.
34. Schreiber S, Perkins SL, Teitelbaum SL, Chappel J, Sthal PD, Blum JS. *Regulation of mouse bone marrow macrophage mannose receptor expression and activation by prostaglandin E and IFN-gamma*. J Immunol 1993;151:4973-4981.
35. Mueller-Ortiz S, Sepulveda E, Olsen M, Jagannath Ch, Wanger A, Norris S. *Decreased infectivity despite unaltered C3 binding by a HbhA mutant of Mycobacterium tuberculosis*. Infect Immun 2002;70:6751-6760.
36. Blanchard DK, Michelini-Norris MB, Pearson CA, McMillen S, Djeu JY. *Production of granulocyte-ma-*

- crophage colony-stimulating factor (GM-CSF) by monocytes and large granular lymphocytes stimulated with Mycobacterium avium- M. intracellulare: activation of bactericidal activity by GM-CSF. Infect Immun 1991;59:2396-2402.*
37. Chatterjee D, Robert AD, Lowell R, Brenann PJ, Orme IM. Structural basis of capacity of lipoarabinomannan to induce secretion to tumor necrosis factor. *Infect Immun* 1992;60:1249-1253.
  38. Kaufmann SH. Protection against tuberculosis: cytokines, T cells, and macrophages. *Ann Rheum Dis* 2002;61 Suppl 2:ii54-ii58.
  39. Chan J, Kaufmann SHE. Immune mechanisms of protection. In: Bloom BR, editor. *Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control*. Washington, DC: ASM Press;1994.p.389-415.
  40. Adams LB, Fukutomi Y, Krahenbuhl JL. Regulation of murine macrophage effector function by lipoarabinomannana from mycobacterial strain with different degrees of virulence. *Infect Immun* 1993;61:4173-4181.
  41. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and molecular immunology*. 5th ed. Philadelphia: Elsevier/Saunders;2004.p.275-308.
  42. Nigou J, Zelle-Rieser C, Gilleron M, Thurnher M, Puzo G. Mannosylated lipoarabinomannans inhibit IL-12 production by human dendritic cells: Evidence for a negative signal delivered through the mannose receptor. *J Immunol* 2001;166:7477-7485.
  43. Anthony LS, Chatterjee D, Brennan PJ, Nano FE. Lipoarabinomannana from *Mycobacterium tuberculosis* modulate the generation of reactive nitrogen intermediates by gamma interferon-activated macrophages. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1994;8:299-305.
  44. Billingslea BJ, Blumenthal RL, Seetoon KF, Simons ER, Fenton MJ. Differential response of human mononuclear phagocytes to mycobacterial lipoarabinomannan: role of CD14 and mannose receptor. *Infect Immun* 1998;66:28-35.
  45. Ziegler-Heitbrock HWL, Ulevitch RJ. CD14: Cell surface receptor and differentiation marker. *Immunol Today* 1993;14:121-125.
  46. Pugin J, Heumann ID, Tomasz A, et al. CD14 is a pattern recognition receptor. *Immunity* 1994;1:509-516.
  47. Means TK, Lien E, Yoshimura A, Wang S, Golenbock DT, Fenton MJ. The CD14 ligands lipoarabinomannan and lipopolysaccharide differ in their requirement for Toll-like receptors. *J Immunol* 1999;163:6748-6755.
  48. Asselineau J, Laneelle J. Mycobacterial lipids: a historical perspective. *Front Biosci* 1998;3:164-174.
  49. Jiménez-Martínez MC, Báez R, Linares M, Chávez R, Lascurain R, Zenteno E. Avances en el estudio de los mecanismos celulares de supresión de la respuesta inmunitaria en la tuberculosis. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 2001;14:39-48.
  50. Beckman EM, Porcelli SA, Morita CT, Behar SM, Furlong ST, Brenner MB. Recognition of lipid antigen by CD1-restricted  $\alpha\beta$  T cells. *Nature* 1994; 372:691-694.
  51. Boom WH, Chervenak KA, Mincek MA, Ellner JJ. Role of the mononuclear phagocyte as an antigen-presenting cell for human  $\gamma\delta$ T cells activated by live *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 1992;60:3480-3488.
  52. Prigozy TI, Sieling P, Clemens D, et al. The mannose receptor delivers lipoglycan antigens to endosomes for presentation to T cells by CD1b molecules. *Immunity* 1997;6:187-197.
  53. Burden N, Brassly L, Rosenberg M. Immunization with alpha-galactosylceramide polarizes CD1-reactive NK T cells towards Th2 cytokine synthesis. *Eur J Immunol* 1999;29:2014-2025.
  54. Sada-Ovalle I, Torre-Bouscoulet L, Jimenez-Martinez M del C, Martinez-Cairo S, Zenteno E, Lascurain R. CD1 pathway and NK T cell activation to glycolipid antigens from *Mycobacterium tuberculosis*. *Gac Med Mex* 2005;141: 35-41.
  55. Mogga SJ, Mustafa T, Sviland L, Nilsen R. Increased Bcl-2 and reduced Bax expression in infected macrophages in slowly progressive primary murine *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Scand J Immunol* 2002;56:383-391.
  56. Maiti D, Brattachayya A, Basuu J. Lipoarabinomannana from *Mycobacterium tuberculosis* promote macrophage survival by phosphorylating Bad, though a phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *J Biol Chem* 2001;276:329-333.
  57. Brightbill HD, Libraty DH, Krutzik SR, et al. Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. *Science* 1999;285:732-736.
  58. Yang RB, Mark MR, Gray A, et al. Toll-like receptor-2 mediates lipopolysaccharide-induced cellular signalling. *Nature* 1998;395:284-288.
  59. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997;388:394-397.
  60. Bulut Y, Faure E, Thomas L, Equils O, Arditi M. Cooperation of Toll-like receptor 2 and 6 for cellular activation by soluble tuberculosis factor and *Borrelia burgdorferi* outer surface protein A lipoprotein: role of Toll-interacting protein and IL-1 receptor signaling molecules in Toll-like receptor 2 signaling. *J Immunol* 2001;167:987-994.
  61. Stenger S, Modlin RL. Control of *Mycobacterium tuberculosis* through mammalian Toll-like receptors. *Curr Opin Immunol* 2002;14:452-457.
  62. Krieger M, Herz J. Structures and functions of multiligand lipoprotein receptors: macrophage scavenger receptors and LDL receptor-related protein (LRP). *Annu Rev Biochem* 1994;63:601-637.
  63. Dunne DW, Resnick D, Grenberg J, Krieger M, Joiner KA. The type I macrophage scavenger receptor binds to gram-positive bacteria and recognizes lipoteichoic acid. *Proc Natl Acad Sci* 1994;91:1863-1867.

**Correspondencia:**

Dra. Patricia Gorocica.  
Departamento de Bioquímica.  
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Calzada de Tlalpan 4502, colonia Sección XVI. México, DF., 14080.  
Teléfono 56664539, extensión 230.  
e-mail: pgorocica@yahoo.com.mx