

11261
lej
4

**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA



**INMUNOREGULACION EN
TUBERCULOSIS HUMANA.**

OFB ALFONSO ENRIQUE ISLAS RODRIGUEZ.

T E S I S

**Maestría en Ciencias Biomédicas
Especialidad (Inmunología)**

DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

U. N. A. M.

FALLA DE ORIGEN

México, D. F.

1983



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INMUNOREGULACION EN TUBERCULOSIS HUMANA

C O N T E N I D O

	Pág.
I.- INTRODUCCION	1
A.- El Parásito	
B.- Respuesta Inmune y Tuberculosis	
1.- <u>Factores Inespecíficos</u>	
1.a Factores de Superficie	
1.b Factores Humorales	
1.c Factores celulares	
1.d Fagocitosis y Mecanismos Intra- celulares de Acción Bactericida	
2.- <u>Factores Específicos</u>	
2.a Mecanismos Humorales	
2.b Mecanismos Celulares	
II.- MATERIAL Y METODOS	14
III.- RESULTADOS	17
IV .- DISCUSION	20
V .- RESUMEN	23
VI .- TABLAS Y FIGURAS	25
VII.- BIBLIOGRAFIA	34

INMUNOREGULACION EN TUBERCULOSIS HUMANA

C O N T E N I D O

	Pág.
I.- INTRODUCCION	1
A.- El Parásito	
B.- Respuesta Inmune y Tuberculosis	
1.- <u>Factores Inespecíficos</u>	
1.a Factores de Superficie	
1.b Factores Humorales	
1.c Factores celulares	
1.d Fagocitosis y Mecanismos Intra- celulares de Acción Bactericida	
2.- <u>Factores Específicos</u>	
2.a Mecanismos Humorales	
2.b Mecanismos Celulares	
II.- MATERIAL Y METODOS	14
III.- RESULTADOS	17
IV .- DISCUSION	20
V .- RESUMEN	23
VI .- TABLAS Y FIGURAS	25
VII.- BIBLIOGRAFIA	34

I.- INTRODUCCION.

En su sentido más amplio el término inmunidad se aplica a los mecanismos por medio de los cuales los individuos se protegen de infecciones. Estos incluyen barreras físicas, factores humorales no específicos, células efectoras, así como los componentes inespecíficos. Sin embargo, se puede presentar un estado de deficiencia que puede ser genéticamente transmitido y ser debido a factores del medio ambiente o incluir estados de desnutrición (Valdmarsson, 1978).

Los defectos principales en los mecanismos de defensa se manifiestan poco después del nacimiento; sin embargo, se pueden observar defectos menores que pueden ser compatibles con una salud aceptable y que pueden presentarse en cualquier momento. Por otro lado en comunidades mal nutridas y endémicas la presencia de algún agente patógeno puede ser fatal. En este sentido, en países en desarrollo como México, encontramos zonas que pueden considerarse como problemas de salud pública (Pacheco, 1980).

La tuberculosis es una enfermedad infecto-contagiosa causada generalmente por Mycobacterium tuberculosis, menos frecuentemente por M. bovis y rara vez por M. avium. El agente causal se adquiere generalmente por inhalación y por tanto el pulmón le brinda a estas micobacterias el terreno ideal para su implante y reproducción ya que resulta ser el más aireado e irrigado de un individuo. En general, las formas extrapulmonares del padecimiento son el resultado de diseminaciones de las formas pulmonares. En 1881 se --

describió el bacilo tuberculoso y otras bacterias atípicas relacionadas como agentes causales de la enfermedad. A fines del siglo XIX el punto de vista predominante era que la respuesta inmune humoral (R.I.H.), inducía anticuerpos y "alexinas" -- que estos eran los únicos mecanismos de defensa -- del organismo (Bordet, 1895). En ese tiempo se -- propuso que además de la R.I.H., existía otro mecanismo de respuesta que ahora recibe el nombre -- de inmunidad mediatizada por células (I.M.C.) -- (Metchnikoff, 1905). Esta inmunidad es la que ahora sabemos está asociada con la respuesta al bacilo tuberculoso (Gell y Coomb, 1963; Mackaness, -- 1964, 1967, 1969).

Dada la alta prevalencia de la tuberculosis en -- países como el nuestro, la posibilidad de infectarse se presenta desde la infancia. En ocasiones la enfermedad crónica, tanto pulmonar como de -- otros órganos se desarrolla como resultado de la -- primo infección. En la mayoría de los casos, esta -- primo infección se resuelve a favor del huésped -- quedando como antecedente de sensibilización, la -- hipersensibilidad de tipo IV (Gell y Coombs, -- 1963; Sell, 1978), la cual se manifiesta cuando -- el huésped se pone en contacto con el derivado -- proteico purificado (PPD) (Mackaness, 1967). El -- sujeto ya primo infectado puede desarrollar posteriormente una reinfección, ya sea a través de un -- mecanismo exógeno ó endógeno. La enfermedad tiene comportamientos variados; cuando se presenta en -- el niño las diseminaciones son frecuentes, lo -- cual clínicamente hace suponer que el estado inmunológico en ambas formas es diferente. Desde el -- punto de vista anatomopatológico, la infección tuberculosa produce lesiones granulomatosas que lle

gan hasta la necrosis caseosa, características de la tuberculosis.

Los esquemas terapéuticos tal como se realizan en nuestro país y en otros en vías de desarrollo no han dado los resultados esperados, como lo demuestra la gran concentración de pacientes que acuden a la consulta externa de sus hospitales. Una posible explicación a este problema es que no se han seguido esquemas adecuados, que aunado al estado de malnutrición de los enfermos coadyuva de una manera importante en la morbilidad. Podemos considerar que en países en vías de desarrollo esta enfermedad representa un serio problema de salud -- (Pacheco, 1980). El Instituto Nacional de Enfermedades Pulmonares de la S.S.A., INEP, cuenta con ochocientas camas, de las cuales quinientas se dedican a enfermos con tuberculosis pulmonar. Esto es importante si consideramos que se trata de un hospital de concentración nacional que puede constituir una muestra representativa del país. En cambio en los países que cuentan con los recursos metodológicos óptimos, la tuberculosis no representa un problema de salud pública.

A.- El Parásito: Mycobacterium tuberculosis.

Este microorganismo pertenece al orden Actinomycetales, familia Mycobacteriaceae y género Mycobacterium, que corresponde a bacilos ácido resistentes, "inmóviles", no esporulados y que se han definido por su propiedad tintórea característica, la cual depende de la riqueza en lípidos de su pared celular. Debido a esto, son relativamente impermeables a varios colorantes básicos, aunque una vez teñidos lo retienen con tenacidad. Resistente a la decoloración con disolventes orgánicos ací

dificados, por lo cual se han denominado ácido-alcohol resistentes. Desde el punto de vista antigénico, la definición expresa las características especiales en cuanto a su contenido de lípidos -- que oscila entre el veinte y el cuarenta por ciento de su peso seco, Además su pared celular tiene también gran cantidad de lípidos (sesenta por -- ciento de su peso seco). Esta propiedad explica el carácter hidrofóbico de estos organismos y posiblemente desde el punto de vista humoral su baja inmunogenicidad, implicando que la R.I.H., no juegue un papel importante en la protección del huésped. La riqueza de la pared en lípidos explica la tendencia de estas bacterias a adherirse -- una con otra y flotar en la superficie cuando crecen en medio líquido. La enorme cantidad de lípidos también puede contribuir a la lentitud en su crecimiento, ya que dificulta el paso de las sustancias nutritivas al interior de la célula y además consume gran parte de su capacidad biosintética. Estas características han ocasionado el que se haga un símil biológico con la tortuga ("lenta pero protegida por una armadura") (Dulbecco, -- 1980).

Entre los lípidos extraídos de las micobacterias tenemos las ceras (ésteres de ácidos grasos con -- alcoholes) y los glucolípidos micósidos, donde -- los lípidos y glúcidos se hayan unidos covalentemente. Las micobacterias y las corinebacterias -- son las únicas que poseen ceras verdaderas. Los ácidos grasos que se encuentran en los lípidos de las micobacterias son diversos, uno de ellos es -- el ácido micólico que parece ser específico de este organismo. Estos ácidos grasos, grandes, saturados, con ramificaciones A y B hidroxiladas, se --

encuentran tanto en las ceras como en los glucolípidos (Daniel, 1978).

La asociación de la virulencia con el crecimiento en forma de serpentinadas, condujo a la búsqueda en las micobacterias de un componente de superficie responsable de ambas características. (Bloch, - - 1950), extrajo de las cepas virulentas, con éter de petróleo, una sustancia denominada "factor cuerda", considerada como responsable de la mencionada asociación. La estructura química del factor cuerda es la de un micósido 6.6 dimicolil-trehalosa. La sustancia es tóxica, inhibe la migración de leucocitos *in vitro* y mata al ratón en dosis de 10 mg por vía subcutánea. El tratamiento de las cepas virulentas con éter de petróleo las vuelve avirulentas, aunque las bacterias permanecen viables. El bacilo tuberculoso que se pasa repetidamente en animales que se obtiene de cultivos jóvenes es más virulento y posee una mayor cantidad del factor cuerda y de un sulfolípidos -- que se ha asociado con su virulencia (Dulbecco, - 1900).

La cera D es un micósido de peso molecular elevado, que contiene ácidos micólicos y un glucopéptido. Se piensa que esta cera se encuentra localizada en la capa basal de la pared, ya que el péptido extraído posee los aminoácidos característicos de esta capa, unidos a polímeros de hexosas y hexosaminas. En forma de emulsión induce una hipersensibilidad de tipo retardado a la tuberculina, mientras que la proteína no purificada, tiene la propiedad de provocar una respuesta celular semejante a la del bacilo tuberculoso, incluyendo la necrosis caseosa (Daniel, 1978; Youmans, 1975).

B.- Respuesta Inmune y Tuberculosis.

Las reacciones de la I.M.C., como la hipersensibilidad tipo IV, parecen estar implicadas de manera importante. Según algunos autores, la evolución - adversa crónica que produce, puede estar mediada por mecanismos de inmunosupresión, con la participación de células supresoras, que pueden ser linfocitos T con receptores para el fragmento Fc de la IgG ó ser células adherentes como los monocitos esterase positivos (Ellner, 1973; Katz, 1979; Wade, 1980).

El sistema inmune consiste de componentes inespecíficos y específicos. Los primeros constituyen - la primera línea de defensa y son ampliamente responsables de la inmunidad natural e innata que - presenta al individuo en respuesta al gran número de microorganismos de su medio ambiente. Los mecanismos específicos se presentan cuando los microorganismos traspasan las barreras inespecíficas - (Valdimarsson, 1970).

La relación entre el humano y el parásito puede - resultar en una coexistencia pacífica y simbólica; sin embargo en otros casos como en la lepra y la tuberculosis puede llegar a ser desastroso para el huésped. Entre el parásito y el huésped puede crearse un equilibrio que puede, bajo ciertas circunstancias ser alterado y desplazarse en cualquiera de los sentidos.

En los vertebrados inferiores existe ya un mecanismo específico que les permite reconocer agentes extraños y producir factores que amplifican y dirigen el proceso fagocítico. En los vertebrados

superiores estos sistemas de reconocimiento han alcanzado un alto grado de complejidad. Este tipo de evolución es aditivo a los mecanismos primitivos presentados y preservados por animales superiores. Sin embargo, a pesar del alto grado de complejidad, el sistema inmune en mamíferos superiores depende todavía de una manera importante de barreras de superficie y mecanismos de fagocitosis. La falta de células fagocíticas pone en peligro la vida de un organismo; la pérdida de estas barreras de defensa produce frecuentemente invasión total por microorganismos no patógenos (Valdimarsson, 1975).

1.- Factores Inespecíficos de Defensa

1.a) Factores de Superficie.

Además de que la piel y las membranas mucosas actúan como una barrera física, éstos pueden suprimir ó matar microorganismos por mecanismos, alguno de ellos, poco entendidos: por ejemplo, la humedad, el ácido láctico y los ácidos grasos no saturados juegan un papel importante en la piel; la producción de ácido en el estómago es un potente esterilizante que protege al aparato digestivo; las secreciones mucosas contienen proteínas que bloquean receptores de células susceptibles a virus; además las secreciones mucosas contienen enzimas como lisozima.

La flora normal de la piel también constituye un factor de defensa importante, a tal grado, que cuando se administran antibióticos y desaparece la flora, se presentan efectos muchas veces dañinos para el huésped.

1.b) Factores Humorales (Tisulares).

Muchos factores inespecíficos suprimen o matan al parásito in vitro. Entre estos tenemos a la lisozima que lisa las bacterias gram positivas que poseen ácido murámico en su pared celular; a la propeptidasa en presencia de complemento, capaz de matar algunas bacterias. Además de las proteínas -- que bloquean el enlace de un virus a su receptor en una célula tisular, los tejidos pueden producir interferón que suprime la replicación viral. El ácido láctico puede alcanzar niveles en los -- que puede matar a algunas bacterias patógenas in vitro. Por cierto, la producción de ácido láctico está inhibida en los sujetos diabéticos y esto -- puede contribuir a la capacidad disminuida de estos pacientes a limitar infecciones.

1.c) Factores Celulares.

Existen dos clases de células fagocíticas en los mamíferos: los macrófagos y los polimorfonucleares (PMN). Ambas son diferentes en su maduración y regulación de la función fagocítica. Los macrófagos se caracterizan por su capacidad intrínseca bactericida que puede ser incrementada por linfocinas. Estas células se diferencian después de -- ser liberadas de la médula ósea y son características de los tejidos en los cuales residen. Los macrófagos a diferencia de los leucocitos PMN, -- pueden adquirir moléculas específicas que pueden ayudarles a reconocer antígenos extraños. Entre -- éstas tenemos al factor específico que arma macrófagos (SMAF), linfocina liberada por los linfocitos T (Benacerraff, 1979).

Los leucocitos PMN son producidos en la médula - de individuos sanos con una frecuencia de 8×10^7 células por minuto. Cuando están en circulación - son células totalmente maduras y su capacidad -- bactericida no puede ser incrementada por mediadores de la IMC. El PMN permanece en circula - ción un promedio de seis a siete horas; después - de abandonar el torrente sanguíneo probablemente sobreviven en los tejidos sólo uno o dos días. - Se cree que las células fagocíticas (macrófagos - y PMN) no están equipadas con ninuna actividad - inmunológica específica y que su función está -- controlada por mediadores celulares liberados -- (linfocinas y anticuerpos) y otros factores que - actúan en sinergismo con los anticuerpos y com - plemento. Además, este control se lleva a efecto a distancia en el caso de los PMN por medio de - factores quimiotácticos (C3a, C5a).

En relación a la superficie de la célula blanco, ésta puede ser opsonizada por medio del IgG y -- C3b, para las cuales las células fagocíticas tie - nen receptores de la misma manera el anticuerpo - citofílico se adhiere a la célula y reacciona -- con el antígeno, promoviendo la fagocitosis (Val - dimarsson, 1970).

1.d) Fagocitosis y Mecanismos Intracelulares de Acción Bactericidas.

Una vez que la infección se ha establecido, los - mecanismos intrafagocíticos juegan un papel im - portante en la eliminación del agente infeccioso. Estos mecanismos no son bien conocidos, aunque - sabemos la secuencia de los eventos que partici - pan, tales como la adherencia, la ingestión, la -

muerte y la digestión. Una vez adheridos a la membrana de la célula fagocítica, son invaginados y este proceso es seguido quizás por la formación del fagosoma (vacuola) y la fusión con los lisosomas que descargan su contenido de hidrolasas hacia dentro del fagosoma (fagolisosoma) (Klebanoff 1930). Si el organismo sobrevive, habrá burlado una barrera de defensa crítica y que puede ser fundamental para la instalación de una infección crónica, como sucede en el caso de la tuberculosis humana. Las causas que le permiten al bacilo tuberculoso instalarse como parásito intracelular pueden ser debidas a alteraciones del fagocito, tales como:

- i Alteraciones en el pH y ácido láctico.
- ii Deficiencias de la fagocitinas (un grupo de -- protefnas básicas letales para algunas bacterias in vitro).
- iii Deficiencia en la producción de la lisozima.
- iiii Anomalfa en el proceso endocítico que activa -- la oxidación de la glucosa a través de la ruta hexosa monofosfato. Todo este proceso en condiciones normales concluye en la generación de H_2O_2 . Este es un mecanismo importante que genera una acción bactericida que depende de la -- presencia de peroxidasa y un cofactor (haluro) Su efecto se manifiesta sobre numerosos organismos a los que esté tratando de atacar. Sin embargo en el caso de ii. Tuberculosis, las células fagocíticas presentan alteraciones a los diferentes niveles ya mencionados, lo que facilita su instalación, dando lugar un estado in-

feccioso crónico (Good, 1980).

2.- Factores Especificos de Defensa.

2.a) Mecanismos Ilumorales.

El reconocimiento especifico es un mecanismo pa-
ralelo al de la fagocitosis. Sin embargo, el en-
lace del antígeno por el anticuerpo puede ser -
insuficiente para la eliminación del agente pa-
tógeno y sólo indica una experiencia antigénica
previa. Para mantener un estado de equilibrio -
es importante integrar ambos mecanismos; el re-
conocimiento especifico y la fagocitosis tendrá
como proposito la eliminación del agente patóge-
no. En la inmunoglobulina podemos observar una_
integración funcional entre el reconocimiento -
especifico y la fagocitosis, esta última es a -
través de su Fc y de los receptores para este -
en leucocitos polimorfonucleares, basófilos, eg-
sínófilos y fagocitos mononucleares, así como -
en los linfocitos T.

2.b) Mecanismos Celulares.

La inmunidad mediada por células (I.M.C.) es de-
pendiente de linfocitos derivados del timo ó T,
de macrófagos y de linfocinas. La parte humoral
comprende linfocitos B, anticuerpos, complemen-
to y leucocitos PMN. En infecciones naturales o
experimentales en donde existe una deficiencia_
selectiva de la inmunidad celular, la resisten-
cia contra Mycobacterium y otras bacterias in-
tracelulares facultativas se encuentra deprimi-
da; además estos individuos son susceptibles a_
enfermedades por hongos y virus como el herpes,

la viruela y los myxovirus. Es interesante que - la habilidad de ellos para controlar bacterias - piógenas encapsuladas parece normal.

La I.M.C., es activada cuando el linfocito T reconoce al antígeno y libera linfocinas que activan a los macrófagos. Si esto funciona y los factores de T se unen a los macrófagos, la posibilidad de destruir la célula blanco está potenciada (Valdimarsson, 1978).

Los factores específicos e inespecíficos pueden interferir con la interacción entre linfocitos T y antígeno (Blease, 1968). Esto ha sido descrito en pacientes con cáncer y algunas enfermedades crónicas. También existirán deficiencias cuando los linfocitos están ausentes, como en la tolerancia central, ó bien aplasia tímica. Se ha observado la producción defectuosa de linfocinas - en algunos pacientes con candidiasis mucocutánea en donde no hay producción de MIF. Además, se ha observado una alteración en la proliferación de los linfocitos T, los cuales sin embargo, son capaces de producir linfocinas in vitro, como sucede en algunas pacientes con tuberculosis.

La proliferación inespecífica de células puede ser experimentalmente inhibida por irradiación a dosis bajas (400 R), lo cual puede ocasionar la desaparición de los monocitos de la sangre y una alteración en la expresión de la hipersensibilidad retardada; sin embargo, los linfocitos circulantes no se ven afectados. En la clínica, la expresión defectuosa de la IMC puede ser debida a la falta de monocitos circulantes, a defectos

en su maduración o a una alteración de los macrófagos. Defectos en el sistema de la enzima lisozima, como resultado de una enfermedad viral o la estabilización de las membranas lisosomales por drogas (esteroidales, cloroquina y fenotiazinas), puede llevar a una supresión de la hipersensibilidad retardada y a una anomalía de los efectos bactericidas.

Una deficiente genética de la IMC es más peligrosa que una deficiencia en la parte humoral. Las deficiencias selectivas están asociadas -- con infecciones por Neisseria spp, Staphylococcus spp, Pneumococcus spp y Haemophilus spp; -- mientras que, la resistencia a virus y hongos se presenta normalmente. Deficiencias combinadas tanto IMC como de RIH, conlleva a la falta de resistencia a los agentes infecciosos (Valdimarsson, 1970).

Un término relacionado con las Deficiencias -- Inmunológicas es el de Anergia.- La anergia se refiere a la ausencia de una reactividad inmunológica en individuos sensibilizados e incluye fallas de la hipersensibilidad retardada. -- Las anergias pueden ser (i) primarias, que se presentan en enfermedades que afectan el sistema inmune, (ii) generalizadas (parálisis inmune humoral y celular) ó (iii) restringidas -- (respuesta específica). En el contexto de la -- resistencia a la infección, la anergia puede -- ser definida como una hiporeactividad inmunológica que lleva a una inmunidad defectuosa. En tuberculosis esto es de mucha importancia, ya que es frecuente encontrar enfermos que presentan anergia al derivado proteico purificado -- (PPD) o a varios antígenos como la estreptoqui

nasa-estreptodornasa (SK-SD), la candidina, la histoplasmina y otros (McMurray, 1980).

La anergia celular se asocia con alteraciones en la respuesta mediada por células y que puede ser resultado de diferentes causas, entre ellas: fallas en la producción de linfocinas tales como los factores mitogénicos, factores quimiotácticos, factores de la inhibición de la migración de macrófagos, factores citotóxicos, factores reactivos de la piel y esta anergia puede afectar células específicas o inespecíficas. La anergia raramente se debe a una sola causa; así, los esteroides suprimen la IMC por disminuir la liberación de monocitos de la médula ósea, por afectar directamente a los linfocitos T y en parte por favorecer la estabilización de la membrana lisosomal. La anergia es también en muchas ocasiones una característica secundaria de la enfermedad. En cuanto a la aplicación clínica, es importante considerar que la hipersensibilidad retardada en la piel es una expresión final del proceso y requiere desde luego de un sistema inmune celular funcional.

Tomando en consideración que la infección por M. Tuberculosis esta más relacionada con la IMC desde el punto de vista de protección así como en el desarrollo de la enfermedad, decidimos realizar estudios para determinar: a) niveles de linfocitos T totales, b) niveles de linfocitos T supresores (con receptor para Fc de IgG), c) respuesta mitogénica a concanavalina A. Todo lo anterior en sujetos sanos como controles y pacientes con Tb pulmonar, d) cocultivos de linfocitos totales, células adherentes y células no adherentes de enfermos con Tb avanzada y linfocitos de sangre periférica de sujetos normales, e) pruebas de intradermorreacción con PPD para estudiar sus diferencias. El objetivo de este estudio es determinar la actividad funcional de los linfocitos T y de células con propiedades inmunosupresores de pacientes tuberculosos.

II.- MATERIAL Y METODOS.

Pacientes. Se seleccionaron 50 pacientes tuberculosos de -

ambos sexos en base a diagnóstico clínico, al radiológico y a la baciloscopia positiva, la cual se confirmó por cultivo; en algunos casos se agruparon de acuerdo a su reactividad al PPD.

Purificación de linfocitos y monocitos. Se obtuvieron células mononucleares de 10 ml de sangre heparinizada (20 U/ml) por el método de Boyum (Boyum, 1968) con ficol-hipaque. En algunos experimentos las células mononucleares se separaron en base a su adherencia al plástico; con este objeto las células mononucleares se ajustaron a una concentración de 3×10^6 células por ml en el medio de Mc Coy modificado, enriquecido con un 10 % de suero fetal bovino inactivado y se cultivaron por 60 minutos a 37°C. Las células no adherentes se pasaron a una segunda caja de Petri y se cultivaron nuevamente por 60 minutos a 37°C. Las células adherentes de la primera caja, se lavaron exhaustivamente con solución salina balanceada (SSB), se despegaron con un gendarme y se ajustaron para su uso en los experimentos de cultivo (Ellner, 1978).

La riqueza de las células adherentes en monocitos - circulantes con características de macrófagos (Pearse, 1972) se determinó por medición de su actividad esterasa inespecífica, la cual fué de 75%. La presencia de células derivadas de la médula ósea (B) - en esta población, determinada por inmunofluorescencia, fué del 5%. Por otra parte, las células no adherentes se ensayaron con eritrocitos de carnero para determinar su capacidad de formar rosetas; esta población contenía 80% de células T.

Mitógeno. Concanavalina A (Con A) (Sigma Chemical Co. Saint Louis, Mo.). Se usó a una concentración de 5 ug/ml de cultivo.

Antígeno. La intradermorreacción se realizó en

el antebrazo con 3 U de PPD (Laboratorio de Higiene de la Secretaría de Salubridad y Asistencia, México).

Rosetas T. Los linfocitos Y se identificaron -- por la formación de rosetas espontáneas con eritrocitos de carnero (Bloom, 1971).

Rosetas T supresoras. Las células T con receptores para la fracción Fc de la IgG (T_G) se determinaron por su capacidad de formar rosetas con eritrocitos de pollo sensibilizados con IgG de conejo antieritrocito de pollo (Moretta, 1976). Con este objeto las células linfoides se incubaron con los eritrocitos sensibilizados durante 30 minutos a 37°C. Los eritrocitos se lavaron tres veces y se resuspendieron en SSD; finalmente se hicieron reaccionar con los linfocitos en estudio en una proporción de 100:1.

Determinación de linfocitos B. Los linfocitos B se determinaron por inmunofluorescencia con antisueros anti: IgG, IgA o IgD (Hoescht, México) marcados con isotiocianato de fluoresceína y observados en un microscopio Leitz con fuente de mercurio, a una longitud de onda de 260 nm.

Cultivo de células estimuladas con A. Los linfocitos de sangre periférica se cultivaron en microplacas Falcon (No. 3040, Falcon Plastics, -- Oxnard, Calif.), a una concentración de 2×10^5 células por cultivo, en un volumen de 0.1 ml de medio, en presencia o ausencia de la cantidad apropiada del mitógeno. El medio de cultivo consiste en Mc Coy modificado con 10% suero fetal

bovino suplementado con 50 U de penicilina y 50 ug de estreptomina por ml. La incubación se lleva a cabo por tres días en una atmósfera de 5% de CO₂; a las 48 hrs., a cada pozo de cultivo se le administró un pulso de 1 uCi de ³H-timidina (³H-TDR) y 18 hrs., más tarde las células se colectaron en un cosechador -- Brandel. Los filtros se secaron por calor y se colocaron en botellas con 3 ml de líquido de centelleo. Además se hicieron cocultivos -- entre células mononucleares de sujetos normales (N) y células mononucleares (E), células adherentes (Adh) y no adherente (No Adh) de -- pacientes tuberculosos.

III.- RESULTADOS.

Determinación de linfocitos T en pacientes tuberculosos. La enumeración de linfocitos T -- por método de las rosetas mostró que los sujetos tuberculosos con prueba PPD negativa, tenían un menor cantidad (25%) de dichas células que los sujetos normales (49%) (Tabla I -- fig. 1). La diferencia entre ambos grupos es -- significativa ($P < 0.05$).

Determinación de linfocitos T supresores en -- pacientes tuberculosos. Al estudiar la subpoblación de linfocitos con receptores para la -- porción Fc de la IgG, se encontró un valor similar en los enfermos y en los sujetos sanos. Sin embargo, los resultados indican que la mayoría de las células T en dichos pacientes corresponden al tipo supresor (Tabla 1 fig. 1).

Respuesta de linfocitos de pacientes tuberculo

sos a la Con A. Los linfocitos de pacientes tuberculosos muestran en general una respuesta -- disminuida a la Con A. De 19 muestras analizadas en su respuesta al mitógeno, 15 mostraron -- una respuesta disminuida ($P < 0.001$); una dió res-- puesta normal (paciente 25) y tres de ellos una respuesta mucho mayor que la de sus respectivos controles normales (Pacientes 1, 2 y 13) (Tabla II).

Respuesta de linfocitos de pacientes tuberculo-- sos con una prueba PPD positiva o negativa, a -- la Con A. Cuando se agruparon los pacientes tu-- berculosisos de acuerdo a su reactividad cutánea -- al PPD, se observó que los pacientes con una in-- tradermoreacción positiva mostraban una respues-- ta usualmente mayor que la de sus controles nor-- males (132%), mientras que, los linfocitos de -- pacientes con una reacción negativa al PPD -- (anérgicos) presentaban una respuesta significa-- tivamente menor ($P < 0.05$) que la de sus respec-- tivos controles (33.5%) (Tabla III).

Estudio del efecto de células mononucleares, cé-- lulas adherentes no adherentes de enfermos tu-- berculosisos sobre las células mononucleares de -- sujetos normales, cuando se cocultiva en presen-- cia de la Con A. Con el objeto de determinar si -- en las células mononucleares de pacientes tuber-- culosos exista una población celular responsa-- ble de la disminución en la respuesta a la Con A, se realizaron cocultivos con células de indivi-- duos normales y células mononucleares comple-- tas, las células adherentes o las células no -- adherentes de pacientes tuberculosos mostraron --

un rango variable de respuesta. Sin embargo, - la tendencia fue a mostrar una disminución en la respuesta a la Con A (fig. 2). El promedio en todos los casos fue de un 40 a un 50% de -- respuesta. Tanto la población total como las - células adherentes suprimieron la respuesta de las células mononucleares de sujetos sanos. -- Por el contrario, el cocultivo de las células_ de los individuos sanos no mostró supresión y_ lo que se observó fue una tendencia a mostrar_ un efecto aditivo.

Con el objeto de ilustrar el efecto supresor - de las poblaciones celulares mencionadas, pre- sentamos algunos resultados individuales. En - la fig. 3 se puede observar la respuesta de -- los linfocitos de un enfermo tuberculoso a la_ Con A, la cual es dramáticamente diferente de_ la del sujeto sano. Tanto las células adheren- tes como las no adherentes del mismo no respon- den al mitógeno. Cuando se adicionan tanto las_ células mononucleares totales (E) como las cé- lulas adherentes o las no adherentes, se apre- cia una supresión de la respuesta al mitógeno. Es decir, en este paciente existen células su- presoras en poblaciones celulares adherentes y en las no adherentes.

En la fig. 4 se puede ver como las células to- tales (E) o las adherentes suprimen la respues- ta de las células de sujetos sanos a la Con A. En este caso, el cocultivo de células no adhe- rentes de los pacientes con las células norma- les muestran un efecto aditivo similar a la -- del cocultivo de células de dos individuos sa- nos.

Finalmente, en la fig. 5 se presenta un resumen - de los resultados obtenidos con los cocultivos de células de pacientes tuberculosos con las de individuos sanos. La fig. 5 A muestra la respuesta de los linfocitos de pacientes tuberculosos y de sujetos sanos a la Con A, donde se observa la respuesta disminuida de los primeros. Cuando se cocultivan células de sujetos sanos se observa un efecto aditivo (fig. 5 B); mientras que cuando se cocultivan células de pacientes con células de individuos sanos se presenta una supresión en la respuesta al mitógeno (fig. 5 C). Asimismo, cuando se mezclan células de individuos normales con células adherentes (fig. 5 D) o células no adherentes (fig. 5 E) de enfermos tuberculosos, se pone de manifiesto el efecto supresor a la respuesta mitógena. Estos resultados indican que en una población celular de pacientes con tuberculosis existen células con propiedades supresoras -- tanto en poblaciones adherentes (monocitos) como en aquellas no adherentes (linfocitos T y/o B).

IV.- DISCUSION.

Los resultados aquí presentados nos indican que - pacientes con tuberculosis crónica avanzada y con prueba negativa al PPD muestran una deficiencia - de linfocitos T. Además, estos pacientes tienen - un número de células T supresoras que parece corresponder al total de los linfocitos T del enfermo. La disminución en el número de células efectoras o el aumento relativo de células T supresoras podría explicar la anergia observada no solamente contra el PPD, sino también para otros antígenos que se usan para poner de manifiesto la hipersensibilidad de tipo tardío. Dentro del grupo de en-

fermos anérgicos se encontraron unos que mostraron una respuesta disminuída a la Con A y otros que la mostraron normal o elevada al mitógeno. El primer tipo presentó además la propiedad de inhibir la respuesta de células de individuos normales a la Con A. Esta supresión se observó en algunos casos con las células adherentes y además con células no adherentes. Es interesante mencionar que varios pacientes presentaron los dos tipos de células supresoras. Además, tenemos evidencias de que existe una relación entre la respuesta de las células de pacientes tuberculosos a la Con A y el estado clínico de los mismos (manuscrito en preparación); en este caso existe una tendencia a responder en forma normal a la Con A cuando el paciente mejora. Es posible que este comportamiento sea debido a una disminución en el número de células supresoras adherentes o no adherentes. Son necesarios más estudios para definir que factores intervienen en las funciones supresoras, ya sea de las células adherentes esterasa positivos (monocitos) o de las células no adherentes (linfocitos T supresores).

Algunos autores (Ellner, 1978), reportan que la eliminación de las células adherentes del cultivo restituye la respuesta al mitógeno. En nuestros estudios esto no siempre ocurrió y como mencionamos anteriormente, algunos pacientes presentaron ambas poblaciones celulares con propiedades supresoras. La posibilidad de que los monocitos puedan manejar fenómenos de supresión específica es remota, ya que aparentemente se requiere para que esto ocurra, de una célula supresora -- (T) que haga un reconocimiento específico de los

antígenos de M. tuberculosis (Stobo, 1977). Actualmente se acepta que el macrófago por sí mismo no presenta esta capacidad de reactividad específica. Por tanto, las células supresoras en tuberculosis parecen actuar por medio de la interacción de la célula T supresora-macrófago-T efectora; esto explicaría porqué en algunos casos la eliminación de las células adherentes (macrófagos) mejora la respuesta de la célula T - efectora a la Con A (Ellner, 1978).

Se ha reportado que las micobacterias completas pueden estimular a las células adherentes a liberar factores solubles supresores tales como prostaglandinas (Wadee, 1980). El alto contenido de lípidos en la pared de las micobacterias puede estar relacionado con la generación por parte de las células mononuclear adherente, de estos factores supresores a través de la interacción con linfocitos T supresores. Otras moléculas del parásito como las arabinomananas, pueden también suprimir la respuesta blastogénica de los linfocitos humanos (Wadee, 1980). Es necesario indicar que las micobacterias no ejercen ningún efecto supresor cuando se cultivan con una población carente de células adherentes (Wadee, 1980). Es posible que el monocito juegue un papel indispensable en la presentación de la micobacteria al linfocito T_H y que al faltar este monocito no se lleve a cabo el estímulo antigénico ni la respuesta mitogénica. Finalmente, es importante ubicar estos fenómenos in vitro, como hechos que pudieran reflejar lo sucedido en la enfermedad natural. En ésta, una alta concentración de micobacterias puede generar un mecanismo de evasión

del parásito que le permita instalarse y favorecer la infección tuberculosa en el huésped. El estudio del funcionamiento de las células T en tuberculosis nos permite entender mejor la participación de la inmunidad mediatizada por células en la enfermedad y poder utilizarla en beneficio del paciente que la padece y representa un problema de salud pública importante.

V.- RESUMEN.

Se hicieron estudios de inmunidad celular en pacientes con tuberculosis pulmonar. Inicialmente se caracterizó el número de células T y de aquellas con receptores para el fragmento Fc de la IgG (T supresoras). En estos, la población tuberculosa mostró una disminución en el número de linfocitos T. Sin embargo, estos parecen corresponder en su mayoría a células T con actividad supresora. También se determinó la reactividad de las células linfoides de los pacientes tuberculosos a un mitógeno de los linfocitos T, la concanavalina A (Con A). En ellos se encontró que, en general, los pacientes presentan una respuesta menor a la Con A que los controles sanos. Asimismo, esta reactividad al mitógeno es significativamente menor en enfermos con una intradermoreacción negativa al PPD. Finalmente, con el objeto de demostrar si la supresión a la Con A era debida a la presencia de células supresoras en los pacientes tuberculosos, se realizaron cocultivos con las células de los enfermos y las células de sujetos sanos que se estimularon Con A. Los resultados indican la presencia de células con capacidad supresora en los pacientes tuberculosos, las cuales se encuentran tanto en la

población de linfocitos como en las células con propiedades de adherencia (monocitos) al plástico. Se discute la posible participación de estas células en la anergia que se presenta en los mencionados pacientes y en la utilidad que puede representar su estudio como pronóstico de la enfermedad.

e'

VI.- TABLAS Y FIGURAS

TABLA I

DETERMINACION DE LINFOCITOS T Y LINFOCITOS T SUPRESORES EN PACIENTES
TUBERCULOSOS

Grupo	Linfocitos	
	T ^a	T Supresores ^b
Enfermos	25.4 ± 5.0	23.4 ± 10.0
Controles	49.5 ± 8.4	18.6 ± 9.0
	(P < 0.05)	(P < 0.15)

^a La determinación de linfocitos T se llevo a cabo por el método de formación de rosetas con eritrocitos de carnero.

^b La determinación de linfocitos T supresores se realizó por el método de formación de rosetas usando eritrocitos de pollo cubiertos con IgG de conejo (ver Material y Métodos).

TABLA II

RESPUESTA DE LINFOCITOS DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR A LA
CON A

Paciente	% Respuesta	Paciente	% Respuesta
1	221	11	30
2	446	12	16
3	11	13	232
4	87	14	2
5	16	16	52
6	23	17	49
7	45	18	89
8	11	24	19
9	86	25	95
10	62		
Promedio 83.8			

TABLA III

RESPUESTA DE LINFOCITOS OBTENIDOS DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR
A LA CON A: COMPARACION ENTRE PACIENTES CON UNA PRUEBA DERMICA AL PPD
POSITIVA O NEGATIVA.^a

Paciente con		Paciente con	
PPD positivo	% Respuesta	PPD negativo	% Respuesta
1	221	4	87
2	446	6	23
3	11	8	11
5	16	10	62
7	45	11	30
9	86	12	16
13	232	14	2
17	49	16	52
18	89	24	19
Promedio	132.0 ^a	Promedio	32.5 ^a

^a La diferencia en la respuesta de ambos grupos a la Con A es significativa ($P < 0.05$).

PIE DE FIGURAS

- Fig. 1. Distribución de linfocitos T y T supresores en enfermos tuberculosos y en individuos sanos.
- Fig. 2. Cocultivos de células de pacientes tuberculosos con células de sujetos sanos y su respuesta a la Con A. El signo + o - representa la reactividad al PPD.
- Fig. 3. Cocultivo de células mononucleares, adherentes y no adherentes de un paciente tuberculoso con células linfoides de un sujeto sano y su respuesta a la Con A. Obsérvese como solamente las células adherentes suprimen la respuesta de las células normales.
- Fig. 4. Cocultivo de células mononucleares, adherentes y no adherentes de un paciente tuberculoso con células linfoides de un sujeto sano y su respuesta a la Con A. Obsérvese como tanto las células adherentes como las no adherentes suprimen la respuesta de las células de un individuo normal.
- Fig. 5. Respuesta de linfocitos de pacientes tuberculosos y de sujetos sanos a la Con A(A); cocultivo de células de dos sujetos sanos donde se observa un efecto aditivo (B); efecto de las células mononucleares totales sobre la respuesta de células de individuos sanos a la Con A (C); cocultivo de células adherentes de pacientes tuberculosos y células linfoides de sujetos sanos (D) y efecto de células no adherentes de enfermos tuberculosos sobre la respuesta de células linfoides de sujetos sanos (E).

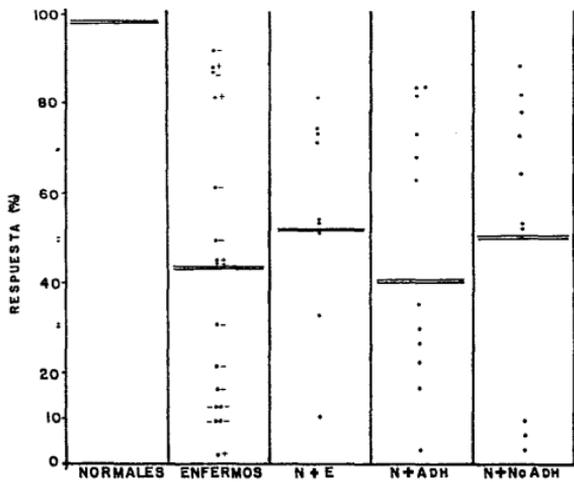


Figura 2

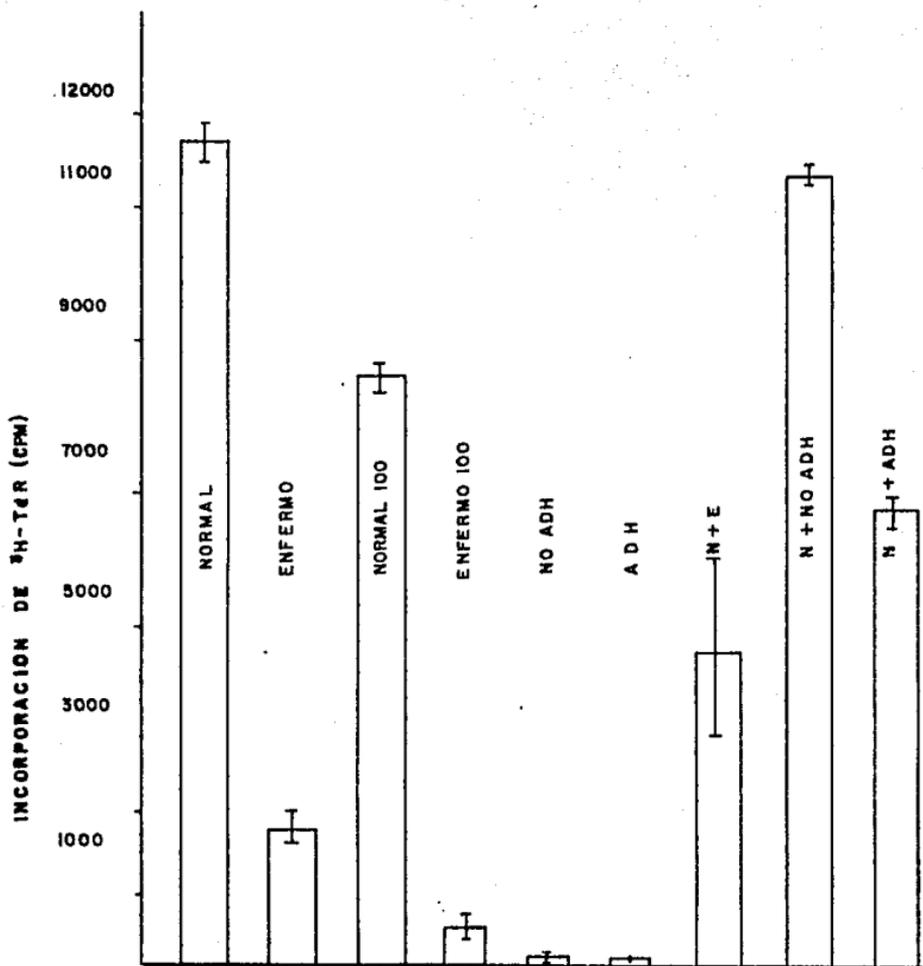


Figura 3

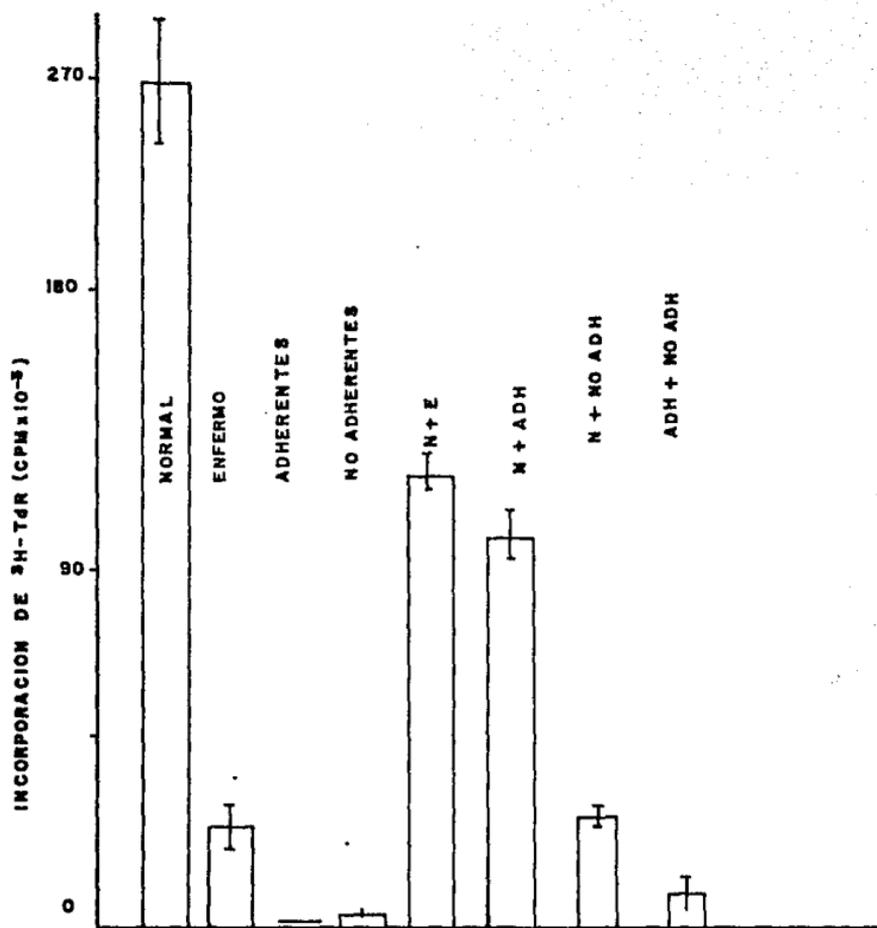
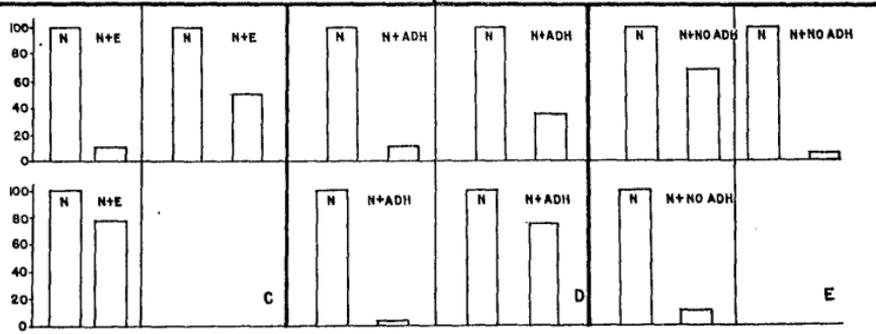
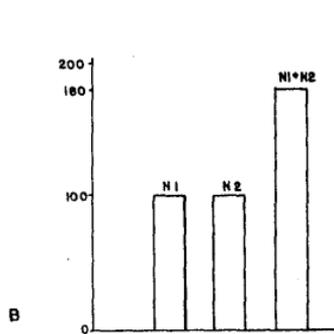
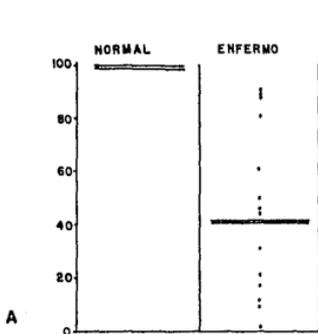


Figura 4



VII. BIBLIOGRAFIA

1. Alarcon-Segovia, D., A. Ruiz-Arcuelles, y L. Llorente. 1979. Antibody penetration into living cells. *J. Immunol.* 112 : 1855.
2. Altman, A. 1980. Immunoregulatory networks. *Immunol. today* .October:73
3. Antel, J.P., y B.G. Arnason. 1979. Suppressor cell function in man; evidence for altered sensitivity of responder cells with age. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 13 :119
4. Ault, F., J. Cerottini, y R.R. Coombs. 1974 . Identification and isolation of B -- and T lymphocytes from human peripheral blood. *Scand. J. Immunol.* 3 :521.
5. Barel, M., y R. Frade. 1980. Detection of Fc gamma receptors on human lymphoblastoid cell surface, using a simple solid phase radioimmunoassay, specific for human IgG. - *J. Immunol. Meth.* 37:123.
6. Beisel, H.R. 1980. Effects of infection on nutritional status and immunity. *Fed. Proc.* 39 :3109.
7. Benacerraf, B., y E.R. Unanue. 1979. Textbook of Immunology .Williams & Wilkins, Baltimore London.
8. Blease, R.M., y W. Strober. 1968. The Wiskott-Aldrich Syndrome a disorder with possible defect in antigen processing or recognition. *Lancet.* 1 : 1054.
9. Bloom, B.R., y R. Glade. 1971. Conference of in-Vitro methods in cell mediated immunity. N.Y Academic.
10. Boyum, A. 1968. Isolation of mononuclear and granulocytes from human blood. *Scand. J. Clin. Lab.* 21:77.
11. Bordet, J. 1895. Les leukocytes et les properietes actives du serum chez les vaccine. *Ann. Inst. Past.* 9 :462. referido en Hobart, M.J., I. McConell, y P.J. Lachman. 1978. The Immune System. Third Ed Chapter five. Blackwell Sci. Pub. Oxford.
12. Bretscher, P.A. 1981. Significance and mechanism of cellular regulation of the immune response. *Fed. Proc.* 40: 1976.
13. Broder, S.L. Muul, y T.A. Waldman. 1978. Suppressor cells in neoplastic disease. *J. Natl. Cancer Inst.* 61: 5 .
14. Bullock, W., E.M. Carlson, y R.K. Gershon . 1978 . The evolution of immunosuppressive-cell populations in experimental mycobacterial infection . *J. Immunol.* 120: 1709.
15. Butcher, E. e I.L. Weissman. 1980 . Direct fluorescent labeling with fluorescein or rhodamin isothiocyanate. I. Technical aspects. *J. Immunol. Meth.* 37:97.
16. Butcher, E., P.G. Scollay, y I.L. Weissman . 1980 . Direct fluorescent labeling of cells with fluorescein or rhodamin isothiocyanate .II. Potential application to studies -- of lymphocyte migration and maturation. *J. Immunol. Meth.* 37:109.
17. Cano-Perez, G., E. Verduzco, y Turriarte, A. 1981. La tuberculosis en la zona norte del país , predicciones epidemiológicas y estrategias operativas. *Sal Pub. Pex.* 23: 159.
18. Catalana, H.J., J.L. Tarpley, C. Potuin, y P.B. Chetien . 1975 . Correlation among concurrent reactivity to D.N.C.B., PHA induced lymphocyte blastogenesis, and peripheral blood E rosettes. *Clin. Exp. Immunol.* 19:327.
19. Chandra, R.K. 1980 . Nutritional deficiency, immune response and infections illness. - *Fed. Proc.* 39: 3086.
20. Chandra, R.K. 1980 . Cell mediated immunity in nutritional imbalance . *Fed. Proc.* 39-- :3088.
21. Chaparas, S.D. , y C.J. Maloney. 1974. An Analysis of cross reactions among Mycobacteria, by In-vivo , In-vitro assays of cellular hypersensitivity . *Am. Rev. Respir. Dis.* --- 117 : 897.

22. Claman ,H.N. 1979. T cell tolerance ,one signal (hypothesis) .Cell.Immunol. 48 : 201 .
23. Collins,F.M.,y N.E. Morrison . 1979 . Restoration of T cell responsiveness by thymosin :Expression of antituberculous immunity in mouse lunos.Infect.-Immun. 23::330.
24. Collins,F.M. 1982 . Immunology of tuberculosis .Am . Rev .Respir. Dis -- 125:42.
25. Comroe,J.H. 1978 . Retrospectroscope:T.B. or not T.B. . Am.Rev. Respir.Dis. 117:137.
26. Daniel,T.M., y B.W. Janick .1978. Mycobacterial antigens:a review of their-isolation,chemistry and immunological properties .Microbiol.Rev .42:84.
27. Daniel,T.M. ,y P.Anderson. 1977 .The use of immunoabsorbents for the purification of mycobacterial antigens .J.Lab.Clin.Meth. 90:354.
28. Diaz-Jouanen,E.,S.J.Rivero.,L.Llorente.,y D.Alarcon-Senovia. 1967 .Receptor and non receptor bearing lymphocytes in untreated systemic lupus erythematosis.Variations with disease activity. Rev.Invest.Clin. 29:265.
29. Dutton,R.W. 1980 . T lymphocytes subsets and interactions .Fed.Proc.39 :31-09.
30. Eardley,D.D. 1980.Feedback suppression:an immunoregulatory circuit .Fed.---Proc.39:3114.
31. Ellner,J.J. 1978. Pleural fluid and peripheral blood lymphocyte function in tuberculosis. Ann.Int.Med. 89:932 .
32. Ellner,J.J. 1978. Suppressor adherent cells in human tuberculosis.J.Immunol 121: 2573.
33. Evans,R.L.,J.M.Breard.,H.Lazarus.,S.F. Schlossmas.,y L.Chess.1977.Detection, isolation and functional characterization of two human T cell subclasses bearing unique differentiation antigens.J.Exp.Med.145:221.
34. Feldman,M.,P.C.L.Beverly.,J.Woody.,y I.F.C.Mckenzie.1977.T-Tinteractions in the induction of suppressor and helper T cells:analysis of membrane phenotype of precursor and amplifier cells. J.Exp.Med. 145 : 793 .
35. Foad,B.S.I.,L.E.Adams.,Y.Yamauchi.,y A.Litwin. 1974 . Phitomitoen responses of peripheral blood lymphocytes in young and older subjects .Clin.Exp.Immunol .17: 657.
36. Forget,A.,J.C.Benoit.,P.Turcatle.,y G.Chartrand. 1976 . Enhancement activity-of anti-mycobacterial sera in experimental Mycobacterium bovis(BCG) infection in mice.Infect .Immun.13:1301.
37. Sell,P.H.,R.R.A.Coombs.,y P.J.Lachman. 1975 . Clinical aspects of Immunology: Third edition.Sec IV.Chapter 25.Blackwell Sci. Pub. Oxford .
38. Saha,R.S.,E.Schneelieger.,E. Merler .,y F.S. Rosen .1974.Heterogeneity of acquired or common variable agammaglobulinaemia.New.Engl.J.Med. 291: 1 .
39. Sodal,T. 1968 .Immunology of tuberculosis in developing countries .Bull.Wld.-Hlth.Org. 22:184.
40. Good,R.A. ,A.West.,y G.Fernandez .1980 . Nutritional modulation of immune responses .Fed.Proc. 39:3015.
41. Goren,M.B.,1982 . Immunoreactive substances of Mycobacteria .Am.Rev.Respir.--Dis..125: 31.
42. Granatzki,M.,y J.R. Kalden. 1978 . The comparison of different rosette assay-systems for the determination of T lymphocytes in patients with solid malignant tumors .Z.Immun.Forsch. 155:104.

43. Greaves, M., G. Brown. 1974 . Purification of human T and B lymphocytes .J. Immunol. 112:420.
44. Gupta, S., C.H. Kirkpatrick., y R.A. Good. 1979 . Subpopulations of human T-lymphocytes. Clin. Immunol. 14: 86.
45. Gupta, S., R.A. Good. 1979 . Subpopulations of human T lymphocytes .J. Immunol. 122: 1214 .
46. Gupta, S., S.A. Schwartz., y R.A. Good . 1979 . Subpopulations of human T lymphocytes. Cell. Immunol. 44:242.
47. Hiernaux, J. 1981. Antiidiotypic networks. Fed. Proc. 40:1484.
48. Hoffman, R., P.C. Kung., W.P. Hausen., y G. Goldstein. 1980. Simple and rapid - measurement of human T lymphocytes and their subclasses in peripheral -- blood .Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 77: 4914.
49. Hood, L.E., y M.E. Koshland., cochairmen Immunology study group . 1981. New initiatives in immunology .U.S. Dep. Hlth. Human Serv. N. I. H.
50. Hudestone, J.R., y M.B.A. Oldstone . 1979 . T suppressor (Tg) lymphocytes fluctuate in parallel with changes in the clinical course of patient with multiple sclerosis. J. Immunol. 123: 1615.
51. Katz, P.R.A. Goldstein ., y A.S. Fauci. 1979 . Immunoregulation in infection-caused by Mycobacterium tuberculosis : the presence of suppressor monocytes and the alteration of subpopulations of T lymphocytes .J. Infect. Dis. 140:12.
52. Klebanoff, S.J. 1980 . Fourth international congress of immunology. Immunology 80. Prog. Imm. 4o Ed . Fougerau, M., y J. Dausset. 41:720. Ac. Press.
53. Klimpel, G.R. 1979 . Soluble factors from BCG induced suppressor cells , - inhibit in vitro PFC response .Cell Immunol. 47:1.
54. Klimpel, G.R., y C.S. Henney. 1978 . BCG induced suppressor cells. J. Immunol- 120:563.
55. Kontarinen, S. y M. Feldman., 1980 . Specific T helper and suppressor cells and factors induced in-vitro. Ann. D' Immunol. 131:10 .
56. Lee, S.T., y F. Paraskevas. 1978 . Macrophage-T cell interactions I. Cell-- Immunol. 40: 141 .
57. Lee, S.T., y F. Paraskevas . 1979 . Macrophage-T cell interactions II. Cell. Immunol. 48: 1 .
58. Lenzini, P., P. Rottoli., y L. Rottoli. 1977 . The spectrum of human tuberculosis. Clin. Exp. Immunol. 27: 230.
59. Lobo, P.I., F.B. Hexterville., y D.A. Howitz. 1975 . Identification of two populations of immunoglobulin bearing lymphocytes in man .J. Immunol. 114: 116.
60. Mackaness, G.B. 1964 . The immunologic basis of acquired cellular resistance .J. Exp. Med. 120:105.
61. Mackaness, G.B. 1967 . The relationship of delayed hipersensitivity to -- acquired cellular resistance .Brit. Med. Bull. 25:52 .
62. Mackaness, G.B. 1968 . The immunology of antituberculosis immunity. Am. Rev. Respir. Dis. 97:337.
63. Mackaness, G.B. 1969 . The influence of immunological lymphoid cells on-- macrophage activity in-vivo. J. Exp. Med. 139: 973.
64. Malave, I. y M. Layrisse . 1976 . Immune response in malnutrition. Differential effect of dietary protein restriction on the IgM and IgG response to alloantigen. 1976 . Cell Immunol 21 :337..

65. Mc Murray, D.H. 1980 . Mechanism of anergy in tuberculosis . *Chest*. 77:1.
66. Mehra, V., L.H. Mason., J.P. Fields., y B.R. Bloom. 1979 . Leprosin induced suppressor cells in patient with leprosy. *J. Immunol.* 123: 1813 .
67. Metchnikoff, E. 1905 . Immunity in infective diseases. London. Cambridge. Univ. Press .citado por Bellanti, J.A. 1971. Chapter 1 .W.B. Sanders Co. Philadelphia .London. Toronto .
68. Moore, D.L., B. Heyworth ., y J. Brown . 1974 . PHA induced lymphocyte -- transformation in leukocyte culture from malarious malnourished and-- control Gambian children . *Clin. Exp. Immunol.* 17: 647.
69. Moore, V.L., Q.H. Myrvik. 1974 . Mycobacterial components responsible for the induction of chronic immunological inflammatory response in rabbits. *Infect. Immun.* 10:21 .
70. Moretta, L., M. Ferrarri., M.C. Mingiari., A. Moretta., y S.R. Webb. 1976 . Subpopulations of human T cells , identified by receptors for immunoglobulins and mitogen responsiveness. *J. Immunol.* 17: 2171 .
71. Moretta, L., S.R. Webb., C.E. Grassi., P.M. Lydyard., y M.D. Cooper. 1977 . --- Functional analysis of two human T cell subpopulations : Help and suppression of B cell responses by T cells bearing receptors for IgM or IgG. *J. Exp. Med.* 146: 184.
72. Myers, J.A. 1974 . Development of Knowledge of unity of tuberculosis-- and the portals of entry of tubercle bacilli. *J. Hist. Med.* April: 213.
73. Nash, D.R., y E. Douglas. 1980 . Anergy in active pulmonary tuberculosis. *Chest*. 77:32.
74. Nowaczyk, M. y E. Skopinska. 1978 . Fractionation of human T lymphocytes on the basis of their high, medium and low SRBC rosette forming affinity: efficiency of the method . *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 26:393.
75. Ortiz, Ortiz, L., D.E. Parks., J.S. Lopez., y W.O. Weigle. 1979 . B lymphocyte-activation with an extract of Nocardia brasiliensis. *Infect. Immun.* 25:--627.
76. Ortiz, Ortiz, L., D.E. Parks., M. Podriguez., y W.O. Weigle. 1979 . Polyclonal B lymphocyte activation during Trypanosoma cruzi infection *J. Immunol.* 124:121.
77. Oppenheim, J. y D.L. Rosenstreich . 1976 . Mitogens in Immunology in Ed-- Acad. Press.
78. Ottaway, C.A. 1979 . The gut as an immunological system . *Int. Rev. Physiol.* 19: 323.
79. Pacheco, C.R., R. Olivera., y M. Herrera. 1980 . Panorama epidemiológico y control de la tuberculosis en la República mexicana. 22: 159.
80. Paciucci, P.A., M. Stuart., J. Mzoring., y F.H. Bach. 1980 . Lysis of syngenic solid tumor by alloantigen stimulated mouse T and non T cells . *J. Immunol.* 124:370 .
81. Pang, G.T.H., D.M. Baguley., y J.D. Wilson. 1974 . Spontaneous rosettes as a T lymphocyte marker : a modified method giving consistent result. *J. Immunol. Meth.* 4:41.
82. Pang, G. y J.D. Wilson. 1978 . Different rosette assay for detecting Fc - receptors bearing lymphocytes, measure different subpopulations . *Immunol.* 35: 407.
83. Papamichail, M., E.J. Holborow., H.I. Keith., y H.I.F. Currey. 1972 . Subpopulations of human peripheral blood lymphocytes , distinguished by combined rosette formation and membrane immunofluorescence. *Lancet.* 2: 64.
84. Paraskevas, F., K.B. Orr., y S.T. Lee . 1979. Macrophage-T cell interactions- III. *Cell. Immunol.* 48:15.
85. Paraskevas, F., y S.T. Lee. 1979 . Macrophage-T cell interactions IV. *Cell.*

85. cont) Immunol. 48:31.
86. Park, B.H. y R.A. Good. 1972. A new micromethod for evaluating lymphocyte responses to phytohemagglutinin: quantitative analysis of the function of the thymus dependent cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 69: 371.
87. Pauw, F.H., y A.D.P. Heyns. 1979. The effect of oral isoniazid on human lymphocytes. South. Afric. Med. J. 55: 86.
88. Pearce, A.G. 1972. Histochemistry theoretical and applied. London & Churchill, Ltd.
89. Perry, L.L., B. Benacerraf., y M.I. Greene. 1970. Regulation of the immune-response to tumor antigens. J. Immunol. 121: 214A.
90. Pettersson, T.M., M. Klockors., P.E. Hellstrom. H. Riska., y A. Wanqel. 1978. T- and B lymphocyte in pleural effusions. Chest. 73: 49.
91. Platsoucas, C.D., R.A. Good., y S. Gupta. 1979. Separation of human T lymphocyte subpopulations (T_{mu}, T_{gamma}) by density gradient electrophoresis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 76: 1972.
92. Ramos--Niembro, F., D. Alarcon-Segovia., y J. Hernandez-Ortiz. 1979. Articular manifestations of mixed connective tissue disease. Arth. Rheum. 22: 1.
93. Ray, P.K. 1978. Preimmunization with BCG vaccine prolongs survival of tumor infected host. Indian. J. Exp. Biol. 16: 1024.
94. Rindsknecht, H. 1962. Ultra rapid fluorescent labelling of proteins. Nature 193: 167.
95. Ruiz-Arduelles, J.R., y E. Diaz Jouanen. 1979. Algunos aspectos inmunológicos de los síndromes linfoproliferativos. Rev. Invest. Clin. Mex. 31: 181.
96. Ruiz-Arduelles, J.R., E. Diaz-Jouanen., y D. Alarcon-Segovia. 1979. PHA induced cellular cytotoxicity. Arth. Rheum. 22: 59.
97. Sell, S. 1978. Immunopathology. Am J. Pathol. 90: 215.
98. Shope, T.C. y J. Kaplan. 1979. Inhibition of the in-vitro outgrowth of Epstein Barr virus infected lymphocytes. J. Immunol. 123: 2150.
99. Siegel, S. 1976. Estadística no paramétrica 3o Ed Trillas.
100. Smider, D.E. 1982. The tuberculin skin test. Am. Rev. Respir. Dis. 125: 108.
101. Skibiński, G., J. Zmolski., y Z. Wiczorec. 1979. Modulation of E rosette-forming activity of human lymphocyte by rosette inhibiting factor (R.I.F) and rosette restoring factor. (R.R.F.). Arch. Immunol. Ther. Exp. Warsz. 27: 475.
102. Skibiński, G., J. Zmolski., y Z. Wiczorec. 1978. Modulation of human T lymphocyte rosette formation by serum factors. Arch. Immunol. Ther. Exp. Warsz. 26: 352.
103. Stiehm, E.R. 1980. Humoral immunity in malnutrition. Fed. Proc. 39: 3093.
104. Stjenward, J.F. Vanky., M. Joudal., H. Winzell., y R. Sealy. 1972. Lymphopenia and change in distribution of human B and T lymphocytes in peripheral blood induced by irradiation of mammary carcinoma. Lancet. 1: 1352.
105. Stobo, J.D. 1977. Immunosuppression in man: suppression by macrophages can be mediated by interactions with regulatory T cells. J. Immunol. 120: 1709.
106. Strelkavkas, A.J. R.T. Callery., y J. McDowell. 1978. Direct evidence for loss of human suppressor cells during active autoimmune disease. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 75: 5150.

107. Strelkavkas, A.J., R.T. Callery., Y. Boel., y S.F. Schessum. 1979. - Functional characteristics of human lymphocyte subsets; identified by sera from patient with systemic lupus erythematosus. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 14: 47.
108. Valdimarsson, H., en Hobart, M.J., y I. McConell. 1978. The immune system. 3ed. Sec. 4. Chap. 23. Blackwell. Sci. Pub. Oxford.
109. Wade, A.A., R. Sher., A.R. Rabson. 1980. Production of a supressor-factor by human adherent cells treated with mycobacteria. *J. Immunol.* 125: 1380.
110. Waldman, T.A., R.M. Blease., S. Broder., y R.S. Krauker. 1978. Disorders of supressor immunoregulatory cells in the pathogenesis of immunodeficiency and autoimmunity. *Ann. Int. Med.* 89:226.
111. Waldman, T.A., S. Broder., R.M. Blease., M. Durm., M. Blackman., y W. Strolou. 1974. Role of supressor T cell in pathogenesis of C.V.-hypogamma globulinaemia. *Lancet* 2: 609.
112. Wayne, L.G., 1982. Microbiology of tubercle bacilli. *Am. Rev. Respir. Dis.* 125:31.
113. West, W., S.M. Payne., J.L. Weese., y R.B. Herberman. 1977. Human T-lymphocytes subpopulations: correlation between e rosette forming -- affinity and expression of the Fc receptor. *J. Immunol.* 119: 548.
114. Whisler, R.L., y J.A. Stobo. 1978. Suppression of humoral and delayed hipersensitivity responses by distinct cell subpopulations. *J. Immunol.* 121: 539.
115. Wilson, J.D. 1973. The functions of immune T and B rosette forming -- cells. *Immunol.* 25: 185.
116. Winchester, R.J., S.M. Fu., T. Hohman., y H.G. Kunkel. 1975. IgG on-lymphocyte surfaces; technical problems and the significance of a -- third cells pupulation. *J. Immunol.* 114:1210.
117. Wolinski, E., en Davis, B.D., R. Dulbecco., H.N. Eisen., H.S. Ginsberg., W.B. Wood Jr., M. McCarty. 1978. Tratado de Microbiologia --- 2da. ed. Salvat. Barcelona. Cap. 35: 867.
118. Wybran, J., y H.H. Fudenberg. 1973. Thymus derived rosette forming - cells in various human disease states: cancer lymphoma, bacterial -- and viral infections, and other diseases. *J. Clin. Invest.* 52: 1026.
119. Wybran, J., M.C. Carr., y H.H. Fudenberg. 1972. The human rosette -- forming cell as a marker of a pupulation of thymus derived cells. *J. Clin. Invest.* 51: 2573.
120. Youmans, G.P., y A.S. Youmans. 1957. Measurement of the response of immunized mice to infection with Mycobacterium tuberculosis. *J. Immunol.* 78: 318.
121. Youmans, G.P., y A.S. Youmans. 1969. Allergenicity of Mycobacterial-ribosomal and ribonucleic acid preparations in mice and guinea pigs. *J. Bacteriol.* 97: 134.
122. Youmans, G.P., y A.S. Youmans. 1971. Mycobacterium tuberculosis immunogens. *Ann. Scand.* 13: 706.