

### 13 Modulación de la muerte de monocitos infectados con *Mycobacterium tuberculosis*: papel del Ca<sup>2+</sup>, IL-10 y de PLA2 y correlación con el crecimiento intracelular de la micobacteria

Dulfary Sánchez<sup>1</sup>, Mauricio Rojas<sup>2</sup>,  
Luis Fernando García<sup>2</sup>

#### INTRODUCCIÓN

En macrófagos murinos infectados con *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) el balance entre TNF $\alpha$  e IL-10 modula la apoptosis (1,2). Además, la infección activa flujos de calcio responsables del daño mitocondrial y la regulación dependiente de cAMP (3). En nuestro laboratorio se ha observado que el PPD y el Mtb inducen apoptosis y necrosis en monocitos de pacientes tuberculosos, mientras que en monocitos de controles sólo apoptosis, indicando que los mecanismos de muerte podrían asociarse con la patogénesis de la enfermedad y con el control de la infección. Ensayos de bloqueo muestran que ambos tipos de muerte celular pueden ser modulados por TNF $\alpha$  e IL-10; el anti-TNF $\alpha$  inhibe la apoptosis y la anti-IL-10 la aumenta disminuyendo la necrosis; sin embargo, los mecanismos moduladores de la necrosis son desconocidos. En este proyecto hemos postulado que en presencia de las señales antiapoptóticas de la IL-10, un segundo factor, probablemente el calcio, podría activar otras vías como lipasas y proteasas diferentes a caspasas, que llevan a la muerte celular independiente de la apoptosis.

#### PALBRAS CLAVE

APOPTOSIS  
NECROSIS  
IL-10  
CALCIO  
FOSFOLIPASAS

#### METODOLOGÍA

Promonocitos U937 se han infectado con Mtb, han sido tratados con compuestos para remover calcio, inhibir cAMP y PLA2. La apoptosis y la necrosis han sido evaluadas mediante la estabilidad mitocondrial y las alteraciones en la membrana celular con DIOC6/BE; las células productoras de IL-10 y TNF $\alpha$  mediante citometría de flujo y el crecimiento intracelular de Mtb con <sup>3</sup>H-UdR.

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mtb induce tanto apoptosis como necrosis en U937. La remoción del calcio con BAPTA/AM y el bloqueo del AMPc disminuyeron tanto la apoptosis como la necrosis. El bloqueo de PLA2 inhibió principalmente la necrosis. El cAMP y la pentoxifilina aumentaron las células necróticas pero no las apoptóticas. La remoción del calcio y el bloqueo del cAMP no afectaron las células TNF $\alpha$ <sup>+</sup> pero sí las IL-10<sup>+</sup>. El tratamiento con pentoxifilina incrementó las células IL-10<sup>+</sup> y bloqueó las TNF $\alpha$ <sup>+</sup>. En células infectadas la IL-10 aumentó la necrosis y disminuyó la apoptosis. Finalmente, observamos que el bloqueo de la necrosis pero no de la apoptosis correlaciona con la inhibición del crecimiento intracelular de la Mtb.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. ROJAS M, OLIVER M, GROS P, BARRERA LF, GARCÍA LG. TNF- $\alpha$  and IL-10 modulate the induction of apoptosis by virulent *Mycobacterium tuberculosis* in murine macrophages. *Journal Immunol*, 1999; 162: 6.122-6.131.
2. ROJAS M, BARRERA L, PUZO G, GARCÍA L. Differential induction of apoptosis by virulent *Mycobacterium tuberculosis* in resistant and susceptible murine macrophages. Role of nitric oxide and mycobacterial products. *J Immunol* 1997; 159: 1352-1361.
3. ROJAS M, GARCÍA LF, NIGOU J, PUZO G, OLIVER M. Mannosylated lipoarabinomannan antagonizes *Mycobacterium tuberculosis*-induced macrophage apoptosis by altering Ca<sup>2+</sup>-dependent cell signaling. *J Infect Dis* 2000; 182: 240-251.

.....  
1 Estudiante de Maestría en Inmunología, Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas.  
2 Profesor, Universidad de Antioquia, Facultad de Medicina.  
d\_sanchez02@hotmail.com