

BM-13

EL ESTADO DE LATENCIA DE *Mycobacterium tuberculosis*: SU EXPRESIÓN GENÉTICA *IN VITRO* E *IN VIVO*

Salas-Rangel Patricia,¹ González-Mejía Arturo,¹ Rivera-Gutiérrez Sandra,¹ Hernández-Pando Rogelio,² González-y-Merchand Jorge Alberto.¹

¹ Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N. Prolongación Carpio y Plan de Ayala s/n México D.F.; ² Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán". e-mail: jgonzal1212@hotmail.com. Proyecto apoyado por la Comunidad Económica Europea (ICA4-CT-2002-10063), por CONACyT (SEP-2004-C01-46404) y por SEPI, IPN No. 20050470.

Palabras clave: Latencia, qRT-PCR, tuberculosis.

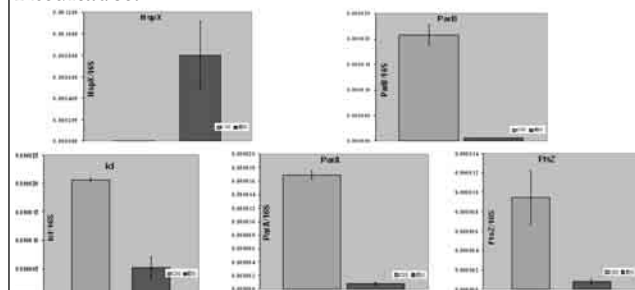
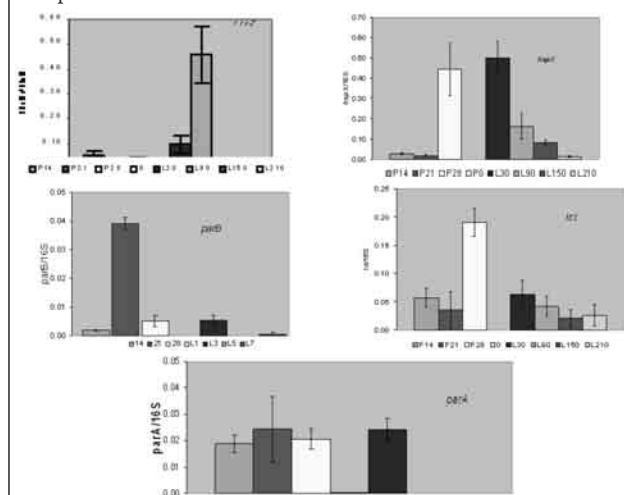
Introducción: La tuberculosis (TB) es una enfermedad de magnitud mundial causada por *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), responsable de 8 millones de nuevas infecciones y 2 millones de muertes al año. El éxito de MTB como patógeno recae en su capacidad para mantenerse latente en su huésped por años e incluso décadas; aunado a esto se sabe que aproximadamente un tercio de la población mundial posee la infección latente y que aproximadamente del 5 al 10 % de esta población infectada sufrirá la reactivación de dicha enfermedad,¹ por lo tanto, es importante estudiar y conocer los factores genéticos que permiten a MTB entrar en persistencia dentro del huésped, a fin de establecer las bases para un mejor control y tratamiento de la TB. Se han propuesto numerosos modelos de laboratorio que simulan la latencia, sin embargo, los más efectivos han sido el modelo *in vitro* de Wayne,² que se basa en la inducción de la latencia mediante la aplicación de una baja concentración de oxígeno, así como los modelos murinos³ *in vivo*, que involucran la respuesta inmunológica del huésped, así como el ambiente real en donde se produce la tuberculosis.

Objetivo: Determinar el nivel de expresión genética de los genes *parA*, *parB*, *hspX*, *ftsZ* e *id* de *Mycobacterium tuberculosis*, durante la infección progresiva y latencia murina, así como en el modelo de hipoxia de Wayne.

Metodología: Se infectaron de forma intratraqueal ratones BALB/c (infección progresiva)³ y C57BL/6JXDBA/2J (latencia) con *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, extrayendo ARN total de los pulmones a los 14, 21 y 28 días postinfección (infección progresiva), así como a los 1,3 5 y 7 meses (latencia). El ARN se purificó mediante lavados con TRIZOL®, y se retrotranscribió mediante el kit Thermoscript RT. Se cuantificó el número de copias de cADN correspondientes a los genes *parA*, *parB*, *hspX*, *ftsZ* e *id* mediante PCR cuantitativa en termociclador de tiempo real Corbett Williams. Para los experimentos de latencia *in vitro*, se empleó el modelo hipóxico de Wayne, obteniendo ARN total de fase logarítmica de crecimiento, así como latencia inducida, este ARN se purificó mediante lavados con TRIZOL® y se retrotranscribió con AMV-RT Promega, se cuantificó de manera semejante al modelo murino.

Los resultados se normalizaron con respecto a la cantidad de copias de el rARN 16S, que también se cuantificó en todas las muestras experimentales *in vivo* e *in vitro*.

Resultados:


I. Expresión *in vitro*.

II. Expresión *in vivo*.

Discusión y conclusiones: Se encontró expresión de algunos genes de latencia aún durante la latencia *in vivo* e *in vitro*, que indican que puede existir replicación celular durante este estadio. También se encontró que la expresión de *id*, antes implicada con la latencia, es incluso mayor durante la infección progresiva, obteniendo el mismo resultado durante el crecimiento logarítmico *in vitro*.

REFERENCIAS

- World Health Organization. *Global Tuberculosis Control: Surveillance, Planning, Financing*. WHO report 2004. Geneva, Switzerland.
- Wayne LG, Hayes GL. An *in vitro* model for sequential study of shutdown of *Mycobacterium tuberculosis* through two stages of nonreplicating persistence. *Infect Immun* 1996; 64: 2062-2069.
- Arriaga A, Orozco H, Aguilar L, Rook G, Hernández-Pando R. Immunological and pathological comparative analysis between experimental latent tuberculous infection and progressive pulmonary tuberculosis. *Clin Exp Immunol* 2002; 128: 229-237.