

Identificación de la expresión de moléculas CD1 en monocitos de pacientes con tuberculosis pulmonar

Leslie Chávez-Galán,^{*,‡} ✉ Kimmy D. Ramírez-Velásquez,[§] Isabel Sada-Ovalle,^{*} Ricardo Lascurain^{‡,||}

Laboratorio de Inmunoquímica, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (INER);^{*} Departamento de Bioquímica, INER;[‡] Médico residente de tercer año de Neumología, INER;[§] Laboratorio de Bioquímica, UNAM^{||}

Trabajo recibido: 13-XII-2010; aceptado: 27-I-2011

RESUMEN. Antecedentes: Las proteínas de la familia CD1 participan en la respuesta inmune celular, presentan antígenos glicolipídicos y activan linfocitos T-antígeno específicos. La identificación de antígenos lipídicos en la pared celular de *Mycobacterium tuberculosis*, así como la presencia de linfocitos T restringidos a CD1 en pacientes con tuberculosis pulmonar sugiere que este sistema de reconocimiento participa activamente en la respuesta inmune celular en contra del bacilo. El objetivo de este trabajo fue identificar el perfil de expresión de las isoformas de CD1 en monocitos de sangre periférica de pacientes con tuberculosis pulmonar.

Material y métodos: Se obtuvieron muestras sanguíneas de 20 pacientes con tuberculosis pulmonar y 20 individuos sanos. Aislamos células mononucleadas y se incubaron con anticuerpos monoclonales dirigidos contra CD14, CD1a, CD1b, CD1d y HLA-ABC. Se analizaron mediante citometría de flujo.

Resultados: Los pacientes con tuberculosis pulmonar mostraron mayor porcentaje de células CD14+ (monocitos) que expresan CD1b (5, iqr 3-6) comparado con individuos sanos (2, iqr 1-3) ($p = 0.0003$). Con respecto a CD1a, CD1d y HLA-ABC no se encontraron diferencias significativas.

Conclusiones: Los pacientes con tuberculosis pulmonar tienen incrementada la frecuencia de monocitos CD1b+, lo que podría favorecer la activación de linfocitos T-antígeno específicos para mediar una respuesta inmune más eficiente.

Palabras clave: CD1a, CD1b, CD1d, monocitos, tuberculosis.

ABSTRACT. Background: Proteins of the CD1 family participate in the cellular immune response and present glycolipid antigens to activate antigen specific T lymphocytes. The identification of lipids antigens in the cell wall of *Mycobacterium tuberculosis*, as well, as the presence of CD1-restricted T lymphocytes in patients with pulmonary tuberculosis; suggests that this system participates actively in the cellular immune response against the bacillus. Our aim in this study was to identify the expression profile of CD1 isoforms in peripheral blood monocytes from pulmonary tuberculosis patients.

Methods: Peripheral blood was obtained from 20 tuberculosis patients and 20 healthy individuals. Mononuclear cells were isolated and incubated with monoclonal antibodies against to CD14, CD1a, CD1b, CD1d and HLA-ABC. Cells were analyzed by flow cytometry.

Results: Tuberculosis patients showed a greater percentage of cells CD14 + (monocytes) expressing CD1b (5, iqr 3-6) when compared with healthy individuals (2, iqr 1-3) ($p = 0.0003$). Regard to CD1a, CD1d and HLA-ABC expression we did not find statistical significant differences.

Conclusions: Patients with pulmonary tuberculosis have high frequency of CD14+ CD1b+ monocytes, which would be able to activate antigen specific T lymphocytes to induce a more efficient immune response.

Key words: Tuberculosis, monocytes, CD1a, CD1b, CD1d.

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis pulmonar (TBp) es una enfermedad infecciosa cuyo agente etiológico es el bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, en el año 2008 se identificaron 9.4 millones de casos nuevos y 1.3 millones de decesos, por lo que la TBp continúa siendo un problema de salud pública.¹ La identificación de cepas micobacterianas resistentes a múltiples fármacos y la

coinfeción con el virus de la inmunodeficiencia humana son factores que agravan la situación de la tuberculosis a nivel mundial.² El desarrollo de la respuesta inmune celular es fundamental para el control adecuado de la infección por *M. tuberculosis*, en ella participan diversas poblaciones de células T, cada una con propiedades únicas y funciones especializadas.³ Previo al descubrimiento de la familia CD1, se consideraba que todos los linfocitos T reconocían antígenos de naturaleza proteica, los cuales eran presentados por las moléculas HLA (del

inglés *human leukocyte antigen*) clase I y clase II. En la actualidad, sabemos que existen linfocitos T que reconocen antígenos de naturaleza lipídica y glicolípida que pueden ser presentados a través de las moléculas de la familia CD1.⁴

La familia CD1 está conformada por un grupo de proteínas integrales de membrana tipo I, que estructuralmente están constituidas por una cadena pesada que forma tres dominios extracelulares ($\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$); la cual está asociada de manera no covalente a la $\beta 2$ -microglobulina.⁵ La familia CD1 está integrada por 5 isoformas denominadas: CD1a, CD1b, CD1c, CD1d y CD1e. Estas proteínas se expresan en todas las especies de mamíferos estudiadas; sin embargo, el perfil de expresión de cada isoforma varía entre las especies.^{6,7} El humano expresa las 5 isoformas de las proteínas CD1, mientras que los roedores sólo expresan CD1d.⁸ A excepción de CD1e que tiene una localización intracelular, las otras isoformas se encuentran en constante reciclaje entre la membrana celular y los diferentes compartimentos endosomales.⁵ Las proteínas CD1 se clasifican en dos grupos: el grupo 1, incluye a las isoformas CD1a, CD1b y CD1c, las cuales se expresan preferencialmente en las células presentadoras de antígeno profesionales, tales como las células dendríticas. El grupo 2, incluye solamente a CD1d y se expresa en varias células de origen no hematopoyético.⁹ Los principales antígenos lipídicos presentados por las moléculas del grupo 1 incluyen ácidos micólicos y otros componentes de la pared de *M. tuberculosis*.¹⁰ Para la molécula CD1d se ha identificado a la alfa-galactosilceramida, glicolípido que deriva de la esponja marina así como algunos glicolípidos derivados de *Borrelia burgdorferi* y *Leishmania donovani*.^{11,12}

Previamente se describió que las poblaciones de linfocitos T que reconocen antígenos glicolípidos presentados por las isoformas CD1a, CD1b y CD1c pueden ser CD4+, CD8+ o dobles negativos (CD4- CD8-), y su participación en la inmunidad antimicobacteriana es relevante debido a su capacidad para lisar células infectadas.^{10,13} Los antígenos glicolípidos presentados por la isoforma CD1d son reconocidos por una subpoblación de linfocitos T llamados linfocitos NKT invariantes, estas células participan en la respuesta inmune frente a bacterias, virus y hongos debido a que secretan grandes cantidades de citocinas como interferón gamma (IFN- γ), interleucina-2 (IL-2) y factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α).^{14,15}

En diversos estudios previamente publicados, se ha descrito que si los monocitos de sangre periférica provenientes de individuos sanos están en contacto con antígenos micobacterianos se modifica su capacidad de diferenciación y disminuyen su capacidad funcional, lo cual podría limitar el desarrollo de una adecuada

respuesta inmune celular.^{16,17} Por otro lado, Tentori *et al* describieron en 1998 que cuando los monocitos eran incubados con interleucina 4, factor estimulante de las colonias de granulocitos y macrófagos, y rifampicina se incrementaba la expresión de la molécula CD1b. Los autores proponen que este antibiótico ayuda, al menos teóricamente, al desarrollo de una respuesta inmune más eficiente al favorecer la inmunidad celular mediada por linfocitos T CD1b-restringidos.¹⁸

Es posible que cambios en la expresión de estas moléculas presentadoras de antígeno sea secundario a un proceso infeccioso como la TBp, lo cual podría tener como consecuencia modificaciones en la activación de linfocitos T y NKT y por lo tanto, en la respuesta inmune celular. Hasta la fecha, no se ha descrito si los pacientes con TBp cambian la expresión de las moléculas CD1 en monocitos de sangre periférica como una consecuencia del proceso infeccioso. Por este motivo, en este estudio nos propusimos analizar la expresión de estas proteínas en pacientes con diagnóstico de TBp y compararlo con individuos sanos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes

Se incluyeron 20 pacientes con diagnóstico de TBp y 20 individuos sanos, durante el período de enero de 2008 a marzo de 2009. El diagnóstico de TBp se sustentó con base en la sintomatología y corroboró mediante los siguientes criterios diagnósticos: baciloscopía positiva, radiografía de tórax con datos sugestivos de TBp y cultivo positivo para *M. tuberculosis*. Todos los pacientes fueron casos nuevos y vírgenes a tratamiento (clase 3 categoría I de acuerdo con los lineamientos de la Sociedad Americana del Tórax), y no presentaban alguna otra comorbilidad.¹⁹ El grupo control estuvo conformado por sujetos clínicamente sanos, con antecedentes de haber recibido la vacuna de Calmette y Guérin (BCG) al nacimiento y por ser PPD+. Todos los participantes firmaron una hoja de consentimiento informado. Los pacientes fueron evaluados en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (INER), ciudad de México. Este protocolo fue autorizado por el Comité de Bioética del INER, No. B32-08.

Reactivos

Ficoll-hypaque (densidad 1.07), azul tripano, albúmina sérica bovina fracción IV, p-formaldehído, azida de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato monopotásico y fosfato disódico anhidro fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Los anticuerpos

monoclonales contra las moléculas CD14 (clona M5E2), CD1a (clona HI149), CD1b (clona M-T101), CD1d (clona CD1d42) y HLA-ABC (clona G46-2.6) conjugados a distintos fluorocromos como isotiocianato de fluoresceína, ficoeritrina o ficoeritrina Cy5 fueron provistos por BD Biosciences (San José, CA, USA).

Obtención de células mononucleadas e inmunofenotipificación

A partir de una muestra de 10 mL de sangre periférica se obtuvieron las células mononucleadas (CMN) por centrifugación (Ficoll hypaque, densidad 1.07). Posteriormente, se resuspendieron en medio de cultivo suplementado (RPMI 1640, HEPES 10 mM, L-glutamina 200 mM, antibiótico 100 mM, aminoácidos esenciales 50X, aminoácidos no esenciales 100X, piruvato de sodio 100 mM) y se evaluó la viabilidad celular por el método de exclusión del colorante azul trípamo. Para la inmunofenotipificación, las células se tiñeron durante 30 minutos con anticuerpos monoclonales dirigidos contra las siguientes moléculas: CD14, CD1a, CD1b, CD1d y HLA-ABC (HLA clase I). Para cada una de las tinciones se incluyeron los respectivos controles de isotipo y FMO (del inglés *fluorescence minus one*). Posteriormente, las células se lavaron con buffer salino-fosfato (PBS) y se fijaron en paraformaldehído al 1%. Las muestras fueron adquiridas en un citómetro FACSAria (BD Biosciences) y se analizaron con el programa FlowJo (Tree Star). Para el análisis se realizó un gráfico de puntos de dispersión frontal (FSC, forward scatter) vs dispersión lateral (SSC, side scatter), a partir del cual se seleccionaron las células positivas para el marcador CD14 y así delimitar una ventana que presentara al menos 90% de células CD14+ (monocitos). A partir de esta

región se analizó el porcentaje de células positivas para HLA clase I, CD1a, CD1b y CD1d, mediante una gráfica de tamaño celular contra expresión de las moléculas mencionadas. Para el análisis de la intensidad media de fluorescencia (IMF) se realizó un histograma desde la región de células CD14+, posteriormente se obtuvo la mediana de expresión y finalmente se calculó la IMF de expresión.

Análisis estadístico

Las variables continuas se expresan como mediana e intervalo intercuartilar. Las proporciones se expresan como porcentaje. Las diferencias entre dos grupos fueron exploradas mediante una prueba U de Mann-Whitney. Se consideró como significativo a un valor de $p < 0.05$ a dos colas. Los datos fueron analizados utilizando el programa GraphPad (versión 5.3) y Stata (versión 9).

RESULTADOS

Se incluyeron a 20 pacientes con diagnóstico de TBp (12 hombres) y 20 individuos sanos (9 hombres). La media de edad en el grupo de pacientes con TBp fue de 40 ± 20 años, mientras que en el grupo control fue de 32 ± 7 años ($p = 0.09$) (tabla 1).

Expresión de HLA clase I en células CD14+

La expresión de CD14 y HLA-ABC se evaluó en CMN totales. Las CMN fueron identificadas a partir de una ventana hecha en un gráfico de puntos de dispersión frontal (FSC, forward scatter) vs dispersión lateral (SSC, side scatter), a partir de la cual se seleccionaron las células positivas para el marcador CD14. Se documentó

Tabla 1. Características demográficas.

Variable	Sano (n = 20)	Enfermo (n = 20)	Valor de p
Edad (años)	32 ± 7	40 ± 20	0.0995
Género			
Hombre	9 (45%)	12 (60%)	0.6838
Mujer	11 (55%)	8 (40%)	
Tuberculosis	No	Pulmonar (75%), pleural (25%)	
Tratamiento antituberculoso	No	No (90%) 1er. Semana de tratamiento (10%)	
Tratamiento con esteroides	No	No	
VIH+	No	No	
Diabetes <i>mellitus</i> +	No	No	

El número (n) total de individuos que formaron parte del estudio es indicado. La edad se muestra en promedio \pm desviación estándar para cada grupo. El valor de la probabilidad (p) se obtuvo con el análisis estadístico U de *Mann-Whitney*. En el género se muestra el número de individuos y entre paréntesis el porcentaje del total, para obtener el valor de p se realizó una prueba ANOVA.

la frecuencia de expresión de la molécula HLA-ABC en células CD14+ en pacientes con TBp comparado con el grupo control (99%, 90-100 vs 99%, 80-100) ($p = 0.9137$) [figura 1A, C]. Posteriormente, mediante un histograma comparamos la intensidad media de fluorescencia para la misma molécula y no identificamos diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.7972$) [figura 1B, D].

Expresión de las isoformas de CD1 en células CD14+

La expresión de las moléculas CD1a, CD1b y CD1d se evaluó en CMN totales. Las CMN fueron identificadas a partir de una ventana hecha en un gráfico de puntos de dispersión frontal (FSC, forward scatter) vs dispersión lateral (SSC, side scatter), a partir de la cual se seleccionaron las células positivas para el marcador CD14. Posteriormente, se realizó el análisis de la coexpresión de los marcadores CD14 vs CD1a, CD1b y CD1d. Comparado con el grupo control, los monocitos CD14+ provenientes de pacientes con TBp tuvieron una mayor expresión de la isoforma CD1b (5%, 3-6 vs 2%, 1-3) ($p = 0.0003$) [figura 2]. Sin embargo, no se identificaron diferencias estadísticas significativas al comparar los

valores obtenidos de pacientes con TBp vs individuos sanos en la expresión de las moléculas CD1a (1, 0.7-2 vs 0.8, 0.3-2, $p = 0.3158$) y CD1d (1, 0.5-2 vs 1, 0.8-2, $p = 8495$) [figura 3].

DISCUSIÓN

Los principales resultados de este trabajo son: 1) los pacientes con TBp tienen una mayor expresión de la molécula CD1b, y 2) los pacientes con TBp muestran los mismos niveles de expresión de las moléculas HLA-ABC, CD1a y CD1d cuando se comparan con individuos sanos.

Previo al descubrimiento del sistema de presentación de antígenos vía CD1, se consideraba que todo el reconocimiento de los linfocitos T estaba dirigido contra pequeños péptidos presentados por moléculas del complejo principal de histocompatibilidad clase I y clase II (MHC por sus siglas en inglés). La identificación de moléculas capaces de presentar antígenos lipídicos y de linfocitos T capaces de reconocerlos ha sido un hallazgo que ha modificado nuestra comprensión sobre la complejidad de la respuesta inmune celular. La na-

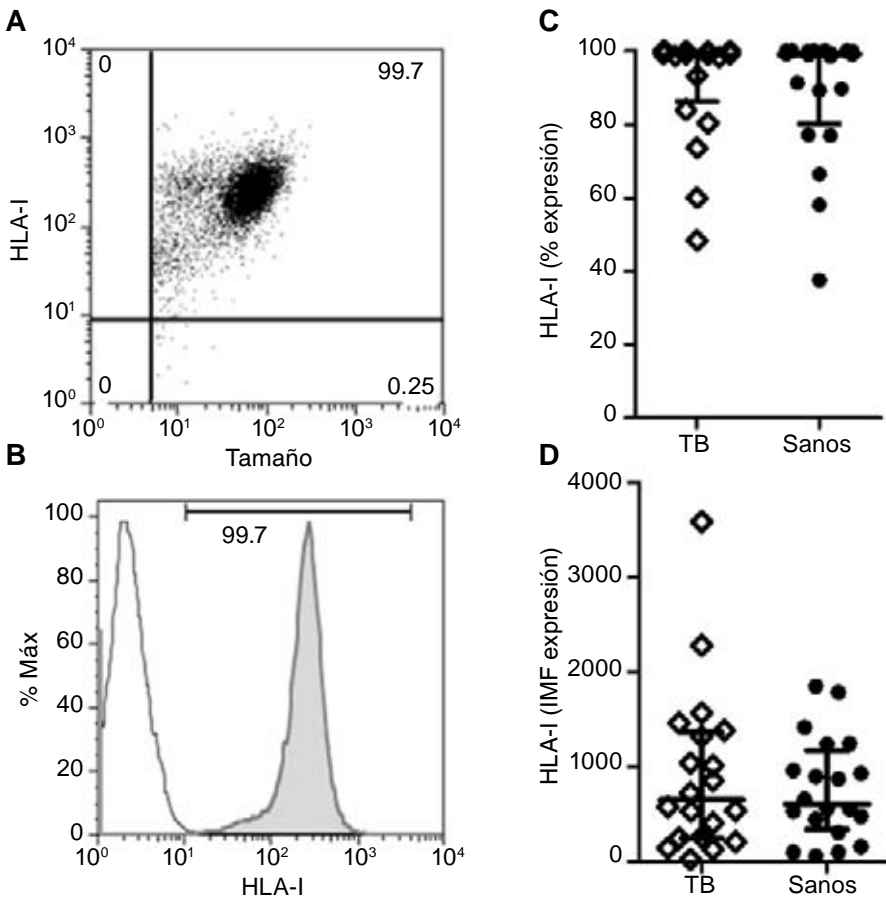


Figura 1. Monocitos de pacientes con TBp y sujetos sanos tienen los mismos porcentajes de expresión de HLA-I. **A)** dot plot representativa de tamaño celular contra expresión de moléculas HLA-I; **B)** histograma representativo de la densidad de expresión de HLA-I (línea con relleno); **C)** porcentaje de expresión de HLA-I en pacientes con TB e individuos sanos, la comparación entre grupos mostró un valor de $p = 0.9137$; y **D)** gráfica para la densidad de expresión de HLA-I en pacientes con TB o en individuos sanos, mostrando un valor de $p = 0.7972$. En C y D los datos se presentan en medianas y rangos intercuantiles.

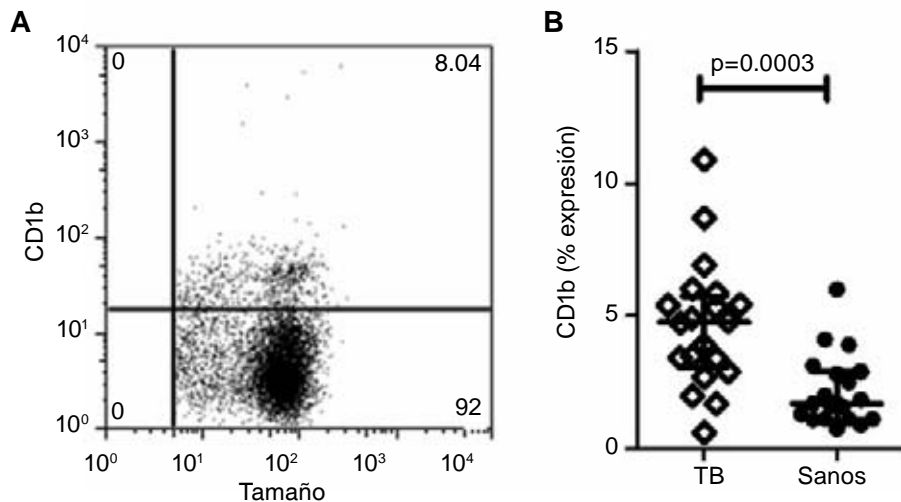


Figura 2. Monocitos de paciente con TBp expresan CD1b. **A)** dot plot representativo de tamaño celular contra expresión de CD1b en células CD14+; y **B)** porcentaje de expresión de CD1b en monocitos de pacientes con TBp e individuos sanos $p = 0.0003$. Los datos se presentan en mediana y rangos intercuantiles.

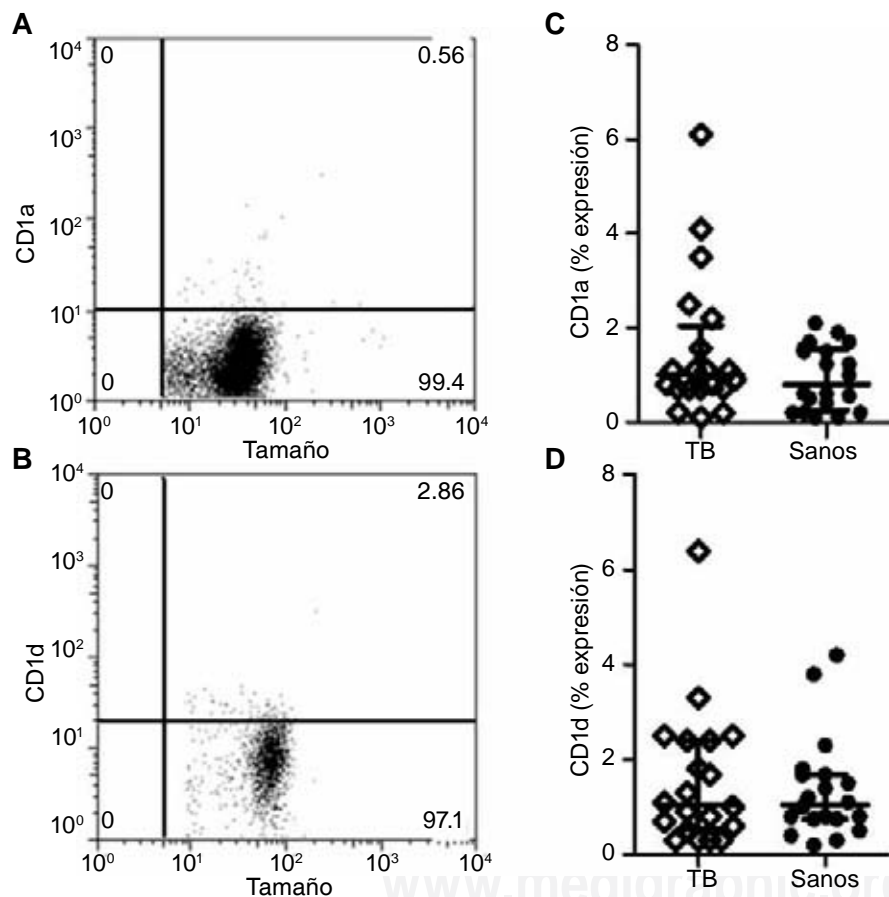


Figura 3. Monocitos de paciente con TBp y sujetos sanos expresan los mismos porcentajes de CD1a y CD1d. **A)** y **B)** dot plot representativo de la expresión de CD1a y CD1d, respectivamente, en células CD14+; y **C)** y **D)** porcentajes de expresión de CD1a y CD1d, respectivamente, en monocitos de pacientes con TBp e individuos sanos ($p = 0.3158$ y $p = 0.8495$, respectivamente). Los datos se presentan en medianas y rangos intercuantiles.

turalidad de las moléculas presentadas por las distintas isoformas CD1 va desde ácidos grasos simples hasta glicolípidos más complejos, incluyendo micolatos y lipopéptidos.¹⁰ Varios estudios previos demuestran que las moléculas del grupo 1 (CD1a, CD1b y CD1c) son pobremente expresadas en monocitos provenientes de

individuos sanos; sin embargo, en este estudio hemos identificado que los pacientes con TBp cursan con una mayor frecuencia de monocitos CD14+ CD1b+.²⁰ Este es un hallazgo relevante ya que los linfocitos T, que reconocen antígenos lipídicos presentados por esta isoforma tienen la capacidad de secretar citocinas de tipo TH1

que son fundamentales para favorecer la eliminación del bacilo.^{21,22} En el caso de los pacientes con TBp descartamos el efecto de la rifampicina sobre la expresión de la molécula CD1 debido a que el grupo de pacientes incluido se encontraba sin tratamiento antifímico o en la primera semana del mismo.

Es posible que algunos pacientes con TBp presenten una frecuencia incrementada de linfocitos T específicos para antígenos lipídicos provenientes de *M. tuberculosis* y que de esta manera participen en el desarrollo de una adecuada respuesta inmune celular contra el bacilo. Otra posible explicación para este resultado es que la expresión de CD1b sea parte de los mecanismos de defensa del hospedero para eliminar a *M. tuberculosis*, ya que el reconocimiento de células infectadas, vía CD1b, por parte de linfocitos T CD8+ activaría mecanismos citotóxicos que serían eficientes para limitar el proceso infeccioso. Estas poblaciones de linfocitos T restringidos a CD1 (grupo 1) ya han sido descritas con anterioridad como importantes mediadoras de la respuesta inmune innata ante diversos patógenos.^{23,24} No es sorprendente identificar que los monocitos CD14+ de pacientes con TBp no muestren una mayor expresión de la molécula HLA clase I y las isoformas CD1a o CD1d, ya que previamente se había descrito que algunos patógenos intracelulares como *M. tuberculosis*, *Leishmania donovani* o *Leishmania major*, pueden regular de manera negativa la expresión de moléculas de la familia CD1, lo que limita el proceso de diferenciación y maduración de monocitos hacia células dendríticas como un mecanismo de evasión de la respuesta inmune.²⁵⁻²⁷ Es importante recordar que *M. tuberculosis* ha desarrollado diversos mecanismos de evasión de la respuesta inmune, uno de ellos es interferir con la presentación de antígenos vía MHC clase II,²⁸ moléculas que se expresan preferencialmente en células presentadoras de antígeno profesionales y su expresión se incrementa gracias a la producción de IFN- γ .²⁹ En la infección crónica de los macrófagos por *M. tuberculosis* se inhibe la presentación de antígenos restringidos a las moléculas clase II, este fenómeno puede ser consecuencia de: 1) secuestro intracelular de moléculas clase II; 2) disminución en la expresión del transactivador clase II (CIITA, por sus siglas en inglés); y 3) inhibición en la señalización intracelular dependiente de IFN- γ .^{30,31} En infecciones por *M. tuberculosis*, a diferencia de lo observado para MHC-II, se ha demostrado que la expresión basal de moléculas MHC de clase I en monocitos de sangre periférica provenientes de pacientes con TBp no tiene valores diferentes a los que provienen de sujetos sanos,³² resultado que concuerda con nuestro hallazgo.

En cuanto a la expresión de la isoforma CD1b los estudios *in vitro* no son concluyentes, en el año 2001

Giuliani *et ál* describieron que *Mycobacterium bovis* BCG regula de manera negativa la expresión de CD1b en macrófagos derivados de monocitos de individuos sanos.³³ Estudios posteriores sugieren que los lípidos provenientes de *M. tuberculosis* sí pueden incrementar la expresión de la molécula CD1b por un mecanismo dependiente del receptor tipo Toll TLR2.³⁴ En este estudio, nosotros hemos identificado *ex vivo* que la isoforma CD1b es expresada en monocitos de sangre periférica de pacientes con TBp, probablemente en consecuencia a la exposición de estímulos microbianos. Aunque desconocemos cuál es el estímulo antigénico micobacteriano que en pacientes con tuberculosis induce la expresión de CD1b, es posible que estos monocitos activen linfocitos T antígeno específicos para que participen en la respuesta inmune celular contra *M. tuberculosis* lisando a las células infectadas y, por lo tanto, controlando el crecimiento micobacteriano.

Son necesarios más estudios para identificar el comportamiento temporal de la expresión de las moléculas CD1 en los monocitos, así como su impacto en la activación de la respuesta inmune celular una vez que los pacientes con TBp han iniciado su tratamiento.

Agradecimientos:

Este trabajo fue financiado por CONACYT, número de proyecto 82434.

REFERENCIAS

1. *Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing: WHO report 2008*. WHO/HTM/TB/2008.393.
2. *Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing*. WHO report 2009. Accesible en: http://www.who.int/tb/publications/global_report/2009/pdf/key_points_es.pdf
3. Russell DG. *Who puts the tubercle in tuberculosis?* Nat Rev Microbiol 2007;5:39-47.
4. Bendelac A. *CD1: presenting unusual antigens to unusual T lymphocytes*. Science 1995;269:185-186.
5. Barral DC, Brenner MB. *CD1 antigen presentation: how it works*. Nat Rev Immunol 2007;7:929-941.
6. Van Rhijn I, Koets AP, Im JS, *et ál*. *The bovine CD1 family contains group 1 CD1 proteins, but no functional CD1d*. J Immunol 2006;176:4888-4893.
7. Dascher CC, Hiromatsu K, Xiong X, *et ál*. *Conservation of CD1 intracellular trafficking patterns between mammalian species*. J Immunol 2002;169:6951-6958.
8. Bradbury A, Calabi F, Milstein C. *Expression of CD1 in the mouse thymus*. Eur J Immunol 1990;20:1831-1836.
9. Dougan SK, Kaser A, Blumberg RS. *CD1 expression on antigen-presenting cells*. Curr Top Microbiol Immunol 2007;314:113-141.

10. Beckman EM, Porcelli SA, Morita CT, Behar SM, Furlong ST, Brenner MB. *Recognition of a lipid antigen by CD1-restricted alpha beta+ T cells*. *Nature* 1994;372:691-694.
11. Kinjo Y, Tupin E, Wu D, et ál. *Natural killer T cells recognize diacylglycerol antigens from pathogenic bacteria*. *Nat Immunol* 2006;7:978-986.
12. Naderer T, McConville MJ. *The Leishmania-macrophage interaction: a metabolic perspective*. *Cell Microbiol* 2008;10:301-308.
13. Porcelli S, Brenner MB, Greenstein JL, Balk SP, Terhorst C, Bleicher PA. *Recognition of cluster of differentiation 1 antigens by human CD4-CD8-cytolytic T lymphocytes*. *Nature* 1989;341:447-450.
14. Sada-Ovalle I, Chiba A, Gonzales A, Brenner MB, Behar SM. *Innate invariant NKT cells recognize Mycobacterium tuberculosis-infected macrophages, produce interferon-gamma, and kill intracellular bacteria*. *PLoS Pathog* 2008;4:e1000239.
15. Tupin E, Kinjo Y, Kronenberg M. *The unique role of natural killer T cells in the response to microorganisms*. *Nat Rev Microbiol* 2007;5:405-417.
16. Mariotti S, Teloni R, Iona E, et ál. *Mycobacterium tuberculosis diverts alpha interferon-induced monocyte differentiation from dendritic cells into immunoprivileged macrophage-like host cells*. *Infect Immun* 2004;72:4385-4392.
17. Rajashree P, Krishnan G, Das SD. *Impaired phenotype and function of monocyte derived dendritic cells in pulmonary tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinb)* 2009;89:77-83.
18. Tentori L, Graziani G, Porcelli SA, et ál. *Rifampin increases cytokine-induced expression of the CD1b molecule in human peripheral blood monocytes*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:550-554.
19. *Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children*. This official statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This statement was endorsed by the Council of the Infectious Disease Society of America, September 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(4 Pt 1):1376-1395.
20. Brigl M, Brenner MB. *CD1: antigen presentation and T cell function*. *Annu Rev Immunol* 2004;22:817-890.
21. Kawashima T, Norose Y, Watanabe Y, et ál. *Cutting edge: major CD8 T cell response to live bacillus Calmette-Guérin is mediated by CD1 molecules*. *J Immunol* 2003;170:5345-5348.
22. Rosat JP, Grant EP, Beckman EM, et ál. *CD1-restricted microbial lipid antigen-specific recognition found in the CD8+ alpha beta T cell pool*. *J Immunol* 1999;162:366-371.
23. Spada FM, Grant EP, Peters PJ, et ál. *Self-recognition of CD1 by gamma/delta T cells: implications for innate immunity*. *J Exp Med* 2000;191:937-948.
24. Stenger S, Mazzaccaro RJ, Uyemura K, et ál. *Differential effects of cytolytic T cell subsets on intracellular infection*. *Science* 1997;276:1684-1687.
25. Amprey JL, Späth GF, Porcelli SA. *Inhibition of CD1 expression in human dendritic cells during intracellular infection with Leishmania donovani*. *Infect Immun* 2004;72:589-592.
26. Donovan MJ, Jayakumar A, McDowell MA. *Inhibition of groups 1 and 2 CD1 molecules on human dendritic cells by Leishmania species*. *Parasite Immunol* 2007;29:515-524.
27. Mariotti S, Teloni R, Iona E, et ál. *Mycobacterium tuberculosis subverts the differentiation of human monocytes into dendritic cells*. *Eur J Immunol* 2002;32:3050-3058.
28. Flynn JL, Chan J. *Immune evasion by Mycobacterium tuberculosis: living with the enemy*. *Curr Opin Immunol* 2003;15:450-455.
29. Noss EH, Harding CV, Boom WH. *Mycobacterium tuberculosis inhibits MHC class II antigen processing in murine bone marrow macrophages*. *Cell Immunol* 2000;201:63-74.
30. Hmama Z, Gabathuler R, Jefferies WA, de Jong G, Reiner NE. *Attenuation of HLA-DR expression by mononuclear phagocytes infected with Mycobacterium tuberculosis is related to intracellular sequestration of immature class II heterodimers*. *J Immunol* 1998;161:4882-4893.
31. Wojciechowski W, DeSanctis J, Skamene E, Radzioch D. *Attenuation of MHC class II expression in macrophages infected with Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guérin involves class II transactivator and depends on the Nramp1 gene*. *J Immunol* 1999;163:2688-2696.
32. Garibay-Escobar A, Estrada-García I, Estrada-Parra S, Santos-Argumedo L. *Integrated measurements by flow cytometry of the cytokines IL-2, IFN-gamma, IL-12, TNF-alpha and functional evaluation of their receptors in human blood*. *J Immunol Methods* 2003;280:73-88.
33. Giuliani A, Prete SP, Graziani G, et ál. *Influence of Mycobacterium bovis bacillus Calmette Guérin on in vitro induction of CD1 molecules in human adherent mononuclear cells*. *Infect Immun* 2001;69:7461-7470.
34. Roura-Mir C, Wang L, Cheng TY, et ál. *Mycobacterium tuberculosis regulates CD1 antigen presentation pathways through TLR-2*. *J Immunol* 2005;175:1758-1766.

✉ **Correspondencia:**

Dra. Leslie Chávez-Galán,
Laboratorio de Inmunoquímica. Instituto Nacional de
Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.
Calzada de Tlalpan 4502, colonia Sección XVI,
Delegación Tlalpan. México, D.F., 14080
Teléfono (+52)55-54871700, extensión 5270
Correo electrónico: qclchagas@hotmail.com

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.