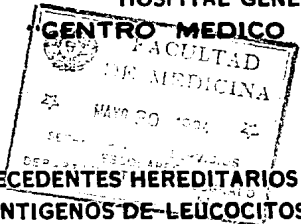


11227 45
Ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL GENERAL



ANTECEDENTES HEREDITARIOS Y DE LIGAMIENTO DE ANTIGENOS DE LEUCOCITOS HUMANOS EN LA TUBERCULOSIS PULMONAR

TESIS DE POSTGRADO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN:

MEDICINA INTERNA

PRESENTA:

DR. ELISEO LUIS LOPEZ



IMSS

MEXICO, D. F.

1994

TESIS CON FALLA DE ORIGEN




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.

PROFESOR TITULAR DEL CURSO:



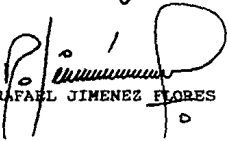
DR. ALBERTO FRATI MUNARI

JEFE DEL SERVICIO:




DR. ENRIQUE MARQUEZ SANCHEZ

ASESOR :



DR. RAFAEL JIMENEZ FLORES



A MI MADRE Y MIS HERMANOS :

Por su apoyo durante mi formación como profesionalista

AGRADECIMIENTOS :

A LA DRA. CLARA GORODEZKY: Por su valiosa colaboración para la tipificación de los Antígenos de Leucocitos Humanos

AL DR. RAFAEL JIMENEZ FLORES : Por su asesoría estupenda y colaboración para la realización de mi Tesis de Postgrado.

INDICE

I.-	INTRODUCCION	1
II.-	ANTECEDENTES	2
III.-	OBJETIVOS	10
IV.-	HIPOTESIS	11
V.-	MATERIAL Y METODOS	12
VI.-	RESULTADOS	14
VII.-	DISCUSION	20
VIII.-	CONCLUSIONES	21
IX.-	BIBLIOGRAFIA	22

INTRODUCCION :

Tradicionalmente se ha considerado que los sujetos que conviven con enfermos tuberculosos tienen un riesgo elevado de adquirir la enfermedad, es indiscutible que la Tuberculosis Pulmonar constituye un problema grave de salud en nuestro país teniéndose una morbilidad elevada, se ha observado además la resistencia a los esquemas terapéuticos utilizados, debiéndose encontrar una explicación a esta situación . Es evidente el papel que desempeñan los linfocitos T en la resistencia inmunológica contra el Mycobacterium tuberculosis, por otro lado es indiscutible la participación de los antígenos de Leucocitos Humanos (HLA) para el reconocimiento antigénico por parte de los linfocitos. Se han iniciado investigaciones acerca de la participación de los HLA en la Tuberculosis pulmonar, en las cuales se ha determinado la participación de los haplotipos HLA DR2 y HLA DR 11 en poblaciones abiertas. Nuestro estudio fué dirigido a familias con TBP en las cuales se encontraran enfermos y exentos de la enfermedad, se incluyeron 2 familias a las cuales se les realizó la tipificación de los HLA de clase I y II, solamente en una sola familia se detectó la presencia de HLA DR11 en los integrantes sanos y que no se encontraba en los integrantes portadores de la enfermedad, en las dos familias se encontró que los enfermos comparten haplotipos , pero no encontramos la presencia de HLA DR2 como se ha observado en las poblaciones abiertas incluidas en estudios previos.

ANTECEDENTES :

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica ocasionada por un grupo de Mycobacterium tuberculosis y M. bovis (1). Representa un problema de salud en países subdesarrollados o en vías de desarrollo que conlleva un índice elevado de morbimortalidad.

Es indudable que la respuesta inmunológica mediada por células es el mecanismo de protección más importante ante la infección por micobacterias en la cual actúan los linfocitos T y los macrófagos (2,3,4). En estudios experimentales se ha demostrado la importancia de los linfocitos T en la respuesta ante esta infección, fundamentalmente aquellos que expresan en su superficie las proteínas codificadas por el heterodímero $\alpha\beta$ del receptor de células T (TCR), aunque se ha sugerido también la participación de los $\alpha\beta$ con aparente menor importancia local. El control adecuado de estas infecciones depende de los siguientes mecanismos: inicialmente las micobacterias infectantes deben ser fagocitadas por macrófagos pulmonares, especializados en presentar antígenos, se digieren en este procesamiento para poder presentarse posteriormente como péptidos asociados a los antígenos de clase I y II del complejo principal de histocompatibilidad (MHC); de esta forma los antígenos de las micobacterias pueden ser reconocidas por el receptor de linfocitos T (TCR) y otras moléculas como CD3, CD4, CD8 y las estabilizadoras de la adhesión celular, para que inicien las señales transmembranales que activen a las células para la

elaboración y secreción de diferentes citocinas (IL-1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11 y 12, TNF, Interferones etc.) (5,6,7), las cuales dirigirán la respuesta inmunológica, activando a los macrófagos, linfocitos T citotóxicos, células NK, linfocitos B que se transforman en células plasmáticas para la producción de anticuerpos y mediadores múltiples de la inflamación. Si la eficiencia de estos mecanismos de defensa son óptimos, se logra controlar y / ó eliminar a las micobacterias (primoinfección), o bien cuando los sujetos se exponen a bacterias no patógenas (vacunación con BCG). la finalidad será lograr una adecuada sensibilización de células de memoria, tanto T como B y una excelente capacidad para activar macrófagos que permitan evitar infecciones ante agresiones posteriores por esta micobacteria.

Dado que el objetivo del trabajo es la participación de las moléculas HLA de clase I y II en la Tuberculosis pulmonar, considero conveniente puntualizar algunas características de estas proteínas; se hayan codificadas sobre el brazo corto del cromosoma 6, en la parte correspondiente al Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC) y que contienen 3 regiones las que codifican para los denominados antígenos de clase I; se subdividen en locus clásicos A,C,B, y además contienen los locus de los antígenos no clásicos F,G,H,E y X (fig.1), éstos genes codifican para una proteína con 3 dominios externos, una porción transmembranal y una citoplasmática. Todas estas moléculas están unidas a una cadena llamada β -2 microglobulina (fig. 2 y 3). Los antígenos de clase II comprenden 3 locus llamados DR,DQ,DP, estos genes codifican para una proteína heterodímera con dos dominios en cada cadena (α_1, α_2) (β_1, β_2), también tienen una región

transmembranal y otra parte citoplasmática (fig.4); entre ambas regiones del MHC se encuentran los genes denominados de clase III que no se mencionan en este trabajo. Los antígenos del HLA clase I y II tienen singular importancia en enfermedades autoinmunes, infecciosas, trasplantes de tejidos y neoplasias (8,9,10,11,12), estas moléculas se hayan las de clase I sobre todas las células del organismo y las de clase II sobre células linfoides (13,14,15). La función primordial es la presentación de pequeños péptidos de los antígenos procesados dentro de las regiones polimórficas (nicho) de los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$ de los antígenos de clase I ó $\beta 1$ y $\beta 2$ de los antígenos de clase II, para que puedan ser reconocidos por TCR más CD8 en el primer caso y TCR más CD4 en el segundo.

Es indudable la influencia de los HLA en múltiples enfermedades, como ejemplo se pueden mencionar la relación de ciertos alelos HLA y enfermedades como Narcolepsia y HLA DRB1, espondilitis anquilosante y HLA B27, artritis reumatoide y HLA DR4 por mencionar algunos ejemplos. Para determinar la importancia de la participación de los HLA en la TBP existen estudios realizados desde 1983, los cuales han sido realizados en poblaciones abiertas portadoras de TBP, encontrándose que los HLA DR2 proporcionaban susceptibilidad hacia la enfermedad (15); otros estudios relacionan al HLA DR11 con resistencia, el interés por investigar esta situación en familias se ha incrementado sin establecerse con precisión los alelos HLA ligados a esta enfermedad; en 1991 Brahmajuthi en u estudio incluyó 356 pacientes con TBP observando que el HLA DR2 se relacionaba con la severidad clínica y con la severidad radiológica (15), en

México existe solo un estudio previo realizado por Gorodezky y cols. en 100 mestizos mexicanos de población abierta con TBP, ellos reportan que el HLA DR2 esta involucrado en la susceptibilidad para la TBP, concluyendo que la severidad de la enfermedad esta condicionada por la presencia de este haplotipo (16); los autores también sugieren que la resistencia a la enfermedad depende muy probablemente del DR11 y por lo tanto tambien esta condicionada genéticamente (16). Todos estos hallazgos demuestran que hay una asociación evidente entre los genes de clase II del HLA y la expresión de la tuberculosis pulmonar; no obstante los estudios de familias realizados hasta ahora no ha logrado demostrar un ligamiento genético claro en grupos étnicos analizados.

Map of the human major histocompatibility complex

R. Duncan Campbell and John Trowsdale

6

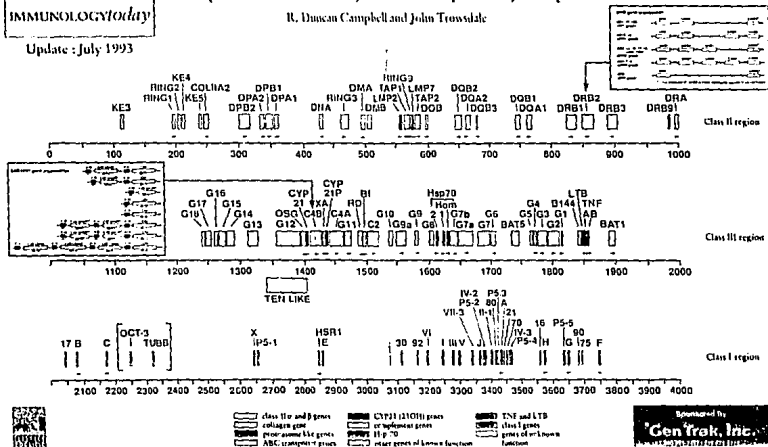


FIGURE 1

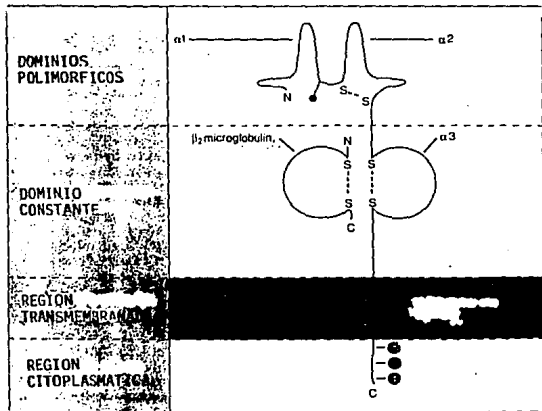


FIGURA 2

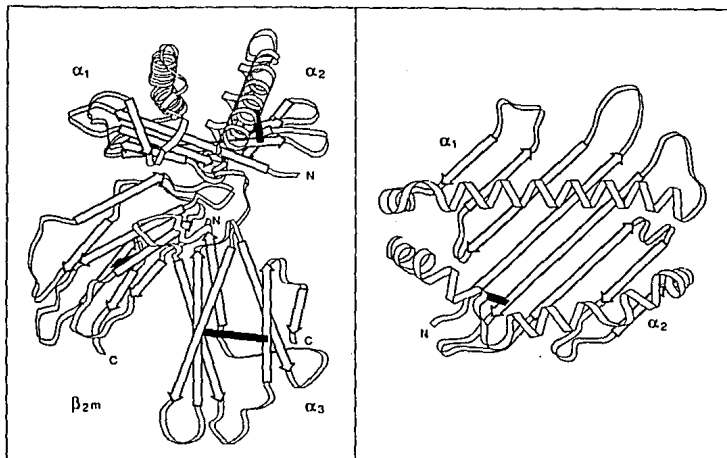


FIGURA 3

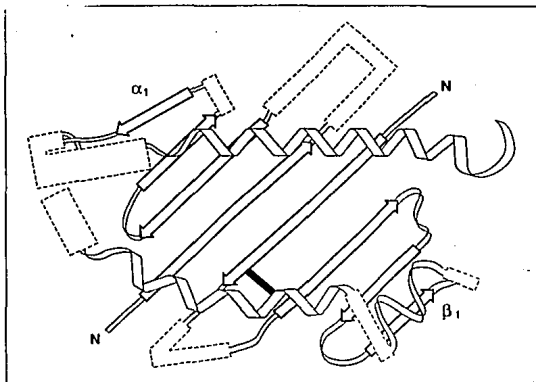


FIGURA 4

OBJETIVOS:

- 1.- Determinar los rasgos de familiaridad en la Tuberculosis pulmonar y en las familias con sujetos afectados.
- 2.- Realizar tipificación de antígenos de leucocitos humanos (HLA) CLASE I y II para establecer si existe o no segregación con la enfermedad.
- 3.- Sugerir la penetrancia genética y el modo de herencia.

HIPOTESIS :

Existe ligamiento genético del Complejo Principal de Histocompatibilidad con la Tuberculosis Pulmonar.

MATERIAL Y METODOS :

Se seleccionaron 100 pacientes con Dx. de Tuberculosis Pulmonar de las Unidades de Medicina Familiar y de los Hospitales Generales de la Zona Norte de la Ciudad, se tomaron datos generales tales como: edad, sexo domicilio, teléfono y ocupación, se visitaron en su domicilio para plantearles el proyecto.

De los 100 pacientes se seleccionaron a 2 de ellos los cuales contaban con un familiar consanguíneo de primer grado con Tuberculosis Pulmonar así como un familiar sano, los criterios de inclusión fueron los siguientes:

- 1.- Familias con más de un integrante consanguíneo de primer grado con tuberculosis pulmonar corroborado con los criterios más estrictos.
- 2.- Pacientes de uno u otro sexo.

Los criterios de no inclusión únicamente fueron presencia de infección por el virus de Inmunodeficiencia Adquirida (HIV)

Los criterios de exclusión fueron:

- 1.- Decisión de no continuar en el estudio
- 2.- Defunción.

A todos los pacientes seleccionados se les realizaron exámenes de laboratorio: Biometría hemática, química sanguínea, Pruebas de función hepática, determinación de anticuerpos anti-mycobacterium tuberculosis por contrainmunolectroforesis, estudio radiológico de tórax, así como PPD mediante reacción de Mantoux con 5 Unidades internacionales (UI), una vez que se

realizaron los estudios señalados se procedió a tipificar los Antígenos de Leucocitos Humanos (HLA) I y II de sangre periférica de las 2 familias incluidas en el estudio. Este procedimiento se realizó en el Departamento de Inmunogenética del Instituto Nacional de diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. de la Secretaría de Salud, en donde se utilizaron técnicas serológicas , celulares y con anticuerpos monoclonales.

RESULTADOS :

De los 100 pacientes portadores de Tuberculosis Pulmonar encuestados, solo se incluyeron a 2 de ellos los cuales tenían familiares de primer grado con TBP; la primera familia integrada por los padres y 3 hijos, la madre y las 2 hijas con TBP, el padre y el hijo sin la enfermedad, en los exámenes realizados no se observó alteraciones, tanto la Biometría hemática, química sanguínea, pruebas de función hepática fueron normales, la determinación de anticuerpos anti-mycobacterium tuberculosis por contrainmunolectroforesis y el PPD fueron negativos, en los estudios radiológicos de tórax solamente la madre presentó lesiones fibróticas aisladas; en la tipificación de los haplotipos HLA se observó que las dos hijas enfermas eran haploidenticas y compartían el mismo haplotipo con la madre, el hermano en cambio comparte haplotipos con el padre, observándose la presencia del HLA DR11 el cual no aparece en las hermanas enfermas, como se muestra en la fig.5.

La segunda familia integrada por la madre y 6 hijos, 5 de ellos vivos y uno ya fallecido, 3 hermanos portadores de Diabetes Mellitus tipo II, dos de los cuales con Tuberculosis Pulmonar y los otros sin TBP, uno de los integrantes portadores de TBP con complicaciones tardías de su Diabetes Mellitus, con nefropatía diabética en fase terminal, la segunda integrante con TBP sin control adecuado de su DM, además de hipercolesterolemia, el portador de D.M. sin TBP con buen control metabólico, los resultados de laboratorio se observan en la tabla 2, la

determinación de anticuerpos anti-mycobacterium tuberculosis por contrainmunelectroforesis y el PPD fueron negativos; en los estudios radiológicos se observó fibrosis pulmonar en los dos hermanos enfermos, siendo más severo en el paciente con complicaciones tardías de D.M. II, durante el análisis de los haplotipos de HLA se observó que los dos hermanos sin TBP compartían los mismos haplotipos y los dos hermanos enfermos compartían a su vez los mismos haplotipos como se observa en la fig 6; no fué posible tipificar al padre por haber fallecido antes de iniciar el proyecto.

TABLA 1

FAMILIA 1

	INT. 1	INT. 2	INT. 3	INT. 4
Hb	14.7	14.8	15.1	14
Hto.	48.9	43.3	48.4	43
VGM	89	93.8	90.4	88
CMHG	30.2	31.3	31.2	30.1
G.R.	5.49×10^6	5.04×10^6	5.36×10^6	5.28×10^6
G.B.	5.600	5.700	7.100	6.400
NEUTROFILOS	3.000	3.200	4.200	4.100
LINFOCITOS	2.000	2.100	2.400	2.000
MONOCITOS	400	300	400	300
EOSINOFILOS	200	100	100	100
PLAQUETAS	180.000	204.000	241.000	175.000
GLUCOSA	89	80	90	95
UREA	31	29	20	18
CREATININA	0.8	0.7	0.4	0.5
TGO	31	28	29	21
TGP	29	32	30	25
ALBUMINA	3.6	3.7	3.7	3.2
GLOBULINA	2.1	2.9	2.3	2.3
COLESTEROL	220	200	200	189

INT.1:madre con TBP, INT2 y 3 hermanas con TBP INT.3 sano.

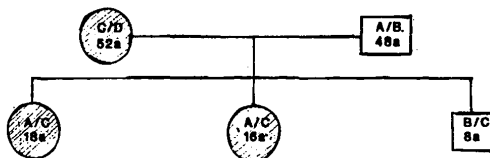
TABLA 2

FAMILIA 2

	INT. 1	INT. 2	INT. 3	INT. 4
Hb	14.8	10.4	11.5	14
HTO	48	31	37.5	44
VGM	82	79.1	76	81
CMHG	31	32.3	30.6	32
G. R.	5.42×10^6	2.49×10^6	4.9×10^6	5.11×10^6
G. B.	5.900	7.400	5.700	5.600
NEUTROFILOS	4.602	5.700	3.400	3.300
LINFOCITOS	944	1.500	2.000	2.100
MONOCITOS	354	200	300	200
PLAQUETAS	310.000	326.000	219.000	189.000
GLUCOSA	136	84	318	95
UREA	38	185	30	25
CREATININA	1.3	10.5	0.9	0.6
TGO	26	16	22	20
TGP	65	16	22	15
ALBUMINA	3.8	3.4	3.6	3.2
GLOBULINA	2.7	2.4	2.5	2.1
COLESTEROL	200	127	362	185

INTEGRANTE 1 y 4 SIN TBP, INT. 2 TBP MAS COMPLICACIONES TARDIAS DE DIABETES MELLITUS, INT.3 CON TBP Y DM DESCOMPENSADA.

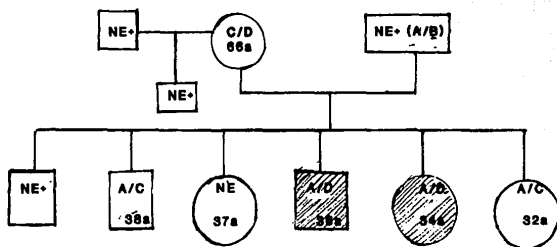
FAMILIA 1



- A: A2 , B35 , Bw6 , Cw1 , DR4 , DR5 , DQ8
- B: A24 , B61 , Bw6 , Cw10 , DR11 , DR52 , DQ7 , DP3
- C: A2 , B62 , Bw6 , Cw1 , DR4 , DR53 , DQ7 , DP4
- D: A- , B39 , Bw6 , Cw- , DR14 , DR52 , DQ5

FIGURA 5

FAMILIA 2



- A + : A2 , B35 , Bw6 , Cw4 , DR8 , DR52 , DQ4
- B ? :
- C : A24 , B16 , Cw7 , DR9 , DR53 , DQ2
- D : A- , B7801 , Bw6 , Cw- , DR7 , DR53 , DQ9

FIGURA 6

DISCUSION :

Es indudable la influencia de los antígenos HLA en la Tuberculosis Pulmonar al igual que en otras múltiples enfermedades como ha sido demostrado, los resultados obtenidos con los estudios hasta ahora realizados han puesto de manifiesto el papel que desempeñan el HLA DR2 y el HLA DR11 en la TBP para la susceptibilidad y resistencia respectivamente, sin embargo esto sucede en poblaciones abiertas, es decir sin nexos familiares, por lo que es obligado la búsqueda de la relevancia de los HLA en familias enteras; en este estudio solo se encontró en la familia No.1 el HLA DR11 en los integrantes sanos, del cual carecían los portadores de la enfermedad, llama también la atención que las enfermas de TBP comparten los mismos haplotipos y no expresan HLA DR2 como se ha reportado en los estudios previos; en la familia No.2 tampoco encontramos HLA DR 2 de susceptibilidad y en los exentos de la enfermedad no encontramos DR11 pero si es digno de llamar la atención que los dos enfermos son haplo idénticos.

CONCLUSIONES :

Solo encontramos herencia clínica en el 2% de nuestra población estudiada.

En la Familia 1 se detectó HLA DR11 en los sujetos libres de enfermedad como ya ha sido reportado por otros investigadores

En nuestra población estudiada no se encontró DR2 como marcador de susceptibilidad

Es imposible realizar un análisis de segregación en forma adecuada y que tenga significancia dado que la población es reducida, se requiere de una población mayor para buscar rasgos de familiaridad; sin embargo es indudable la relación de los HLA con la Tuberculosis Pulmonar, como se ha reportado en estudios realizados en poblaciones abiertas (16), en los cuales se ha encontrado relación del HLA DR2 con la susceptibilidad y el HLA DR11 con protección para la enfermedad.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Riley R, Stead W, Bates J., et al; Tuberculosis. En Fishman Al. eds, Tratado de Neumologia. Pennsylvania, 1992; -- 1167-256
- 2.- Barnes P, Grisso C, Abrams J, Band H, Rea T, Modlin R, -- $\gamma \delta$ T Lymphocytes in human tuberculosis, J Infect Dis -- 1992; 165: 506-12.
- 3.- Ohmen J, Barnes P, Uyemura K, Lu S, Grisso C, et al, The Cell Receptors of Human $\gamma \delta$ T cells reactive to mycobacterium tuberculosis are encoded by specific V genes but diverse V-J junctions. J Immunol 1991; 147:3353-9.
- 4.- Stead W, Senner JW, Reddick WT, Lofgren JP; Racial differences in susceptibility to infection by Mycobacterium -- tuberculosis. N Engl Med 1990; 322:422-7.
- 5.- Huygen K, Vandenbussche P, Heremans H; Interleukin-6 production in Mycobacterium bovis BCG-infected Mice, Cell -- Immunol 1991; 137: 224-31.
- 6.- Kurasawa T, Shimokata K; Cooperation between accessory -- cells and T lymphocytes in patients with tuberculosis -- pleurisy; Chest 1991;100:1046-52.
- 7.- Tazi A, Fajac I, Soler P, Valeyre D, Battesti JP, Hance -- AJ, Gamma/Delta T Lymphocytes are not increased in number in Granulomatous lesions of patients with tuberculo -- sis or sarcoidosis; Am Rev Respir Dis 1991; 144:1373-5.

- 8.- Bothamley GH, Festein F, Newland A; Protective role for-
CD8 in tuberculosis. Lancet 1992; 315-6
- 9.- Falla JC, Parra CA, Mendoza M, , Identification of B and-
T cell Epitopes Within the MTP40 protein of Mycobacterium
tuberculosis and their correlation with the disease cour-
se. Infect Immun 1991; 59: 2265-73
- 10.-Bartow RA, McMurray DN; Erythrocyte Receptor (CD2) bea -
ring T Lymphocytes are affected by diet in experimental -
pulmonary tuberculosis. Infect Immun 1990; 58:1843-7
- 11.-Stead WW, Genetics and Resistance to Tuberculosis Ann Int
Med 1992; 116:937-41.
- 12.-Barinaga M; New test catches Drug Resistant TB in the -
Spotlight. Science 1993; 260:750.
- 13.-Benoist C, Mathis D; Regulation of major histocompatibi -
lity complex class II genes, Annual Review of Immunology-
1990; 8:681-715.
- 14.-Abul K, Andrew H, Jordan S, The Major Histocompatibility.
Complex. En Saunders Company, eds, Cellular and Molecular
Immunology, Pennsylvania, 1991:98-114.
- 15.-Brahmajothi V, Pitchappan R, Kakkanaiah M, Association of
pulmonary tuberculosis and HLA in South India, Tubercle -
1991;72:123-72.
- 16.-Bautista N, Navarro F, Carranza J, Castro L, Cicero R and
Gorodezky C. HLA Class-II antigens and pulmonary tubercu-
losis (PTB) in Mexicans. Human Immun 1992;34,supl:1-32.