

Principales mecanismos de evasión de la respuesta inmune por *Mycobacterium tuberculosis*

Leslie Chávez-Galán,^a María del Carmen Arenas-Del Ángel,^a Isabel Sada-Ovalle^a y Ricardo Lascurain^{b*}

^aDepartamento de Bioquímica, Unidad de Investigación, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, México D.F., México

^bDepartamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 12 de diciembre de 2008

Aceptado: 15 de mayo de 2009

RESUMEN

En la actualidad, la tuberculosis pulmonar es considerada un problema grave de salud mundial. Para entender el proceso infeccioso de la tuberculosis es necesario conocer las interacciones entre la respuesta inmune del hospedero y su agente causal. Actualmente se han realizado grandes avances en la identificación de nuevas moléculas y genes que participan activamente en los mecanismos de evasión, generando la posibilidad de que en un futuro próximo se diseñen diversos compuestos químicos para el desarrollo de vacunas o terapias que tengan como blanco estas moléculas o genes. Sin embargo, no se han esclarecido completamente los diversos mecanismos con que cuenta la micobacteria para evadir la respuesta inmune del hospedero. En esta revisión se discute la evidencia experimental reciente sobre los mecanismos propuestos para el éxito de la bacteria.

Palabras clave:

Mycobacterium tuberculosis, evasión respuesta inmune, tuberculosis

SUMMARY

Pulmonary tuberculosis is currently considered a serious health problem worldwide. To understand tuberculosis infection we need to know the interaction between the host's immune response and the microorganism causing tuberculosis. Ample research has been carried out to identify new molecules and genes involved in the evasion mechanism of the host's immune response. This knowledge has generated the possibility that future therapeutic schemes will be designed to fight these particular molecules or genes. We reviewed recent experimental evidence on the mechanisms that will successfully fight against mycobacteria.

Key words:

Mycobacterium tuberculosis, avoid immune response, tuberculosis

Introducción

El último informe de la Organización Mundial de la Salud indica que cada año hay 9.2 millones de casos nuevos de tuberculosis a nivel mundial.¹ Si se considera que solo 5 a 10 % llega a desarrollar la enfermedad, debe existir alrededor de 92 millones de individuos infectados por *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) anualmente. En la mayoría de los casos el proceso infeccioso es controlado por el sistema inmune.^{2,3}

M. tuberculosis es un patógeno intracelular que tiene la capacidad de sobrevivir y persistir dentro de las células fagocíticas mononucleadas del hospedero. Esto se debe en parte a que su pared celular es abundante en lípidos bioactivos que le confieren baja permeabilidad y algunos están relacionados con la patogénesis.⁴⁻⁶ La primera interacción que tiene *M. tuberculosis* con el hospedero es con componentes

del sistema inmune innato, como macrófagos alveolares y células dendríticas (DC) a través de receptores como los tipo Toll (TLR). Estos receptores promueven la transcripción de genes que favorecen la secreción de citocinas y quimiocinas e inducen apoptosis, entre otras reacciones, con la finalidad de regular la respuesta inmune adaptativa.⁷⁻¹¹ La interacción entre *M. tuberculosis* y el sistema inmune innato inicia la respuesta inflamatoria local, que se caracteriza por un reclutamiento exagerado de células mieloides al pulmón.² Posteriormente, las bacterias viables se diseminan hacia los ganglios linfáticos regionales, donde los linfocitos T son activados vía MHC y se generan linfocitos T efectoros que también serán reclutados al pulmón.^{2-3,12} En la respuesta inmune adaptativa las principales poblaciones celulares que intervienen son los linfocitos T CD4+, cuya función principal es secretar citocinas tipo Th1 (TNF α , IFN γ e IL2) y los linfocitos T CD8+, que llevan a cabo su actividad citotóxica contra

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Ricardo Lascurain. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México, D.F., México. Fax: (55) 5665 4623. Correo electrónico: rlascurain@yahoo.com.mx

células infectadas.^{3,12} Existen otras subpoblaciones celulares que también participan en el control de la tuberculosis pulmonar pero en bajo porcentaje; un ejemplo de estas subpoblaciones son los linfocitos T $\gamma\delta$ y los linfocitos NKT, que no presentan restricción a moléculas MHC para reconocer al antígeno.^{13,14}

La participación de las diferentes poblaciones celulares en la respuesta inmune a *M. tuberculosis* ha sido ampliamente documentada. Sin embargo, la bacteria tiene gran capacidad para persistir de manera indefinida dentro de los macrófagos¹⁵ gracias a una variedad de mecanismos que ha desarrollado para evadir la respuesta inmune del hospedero. Por tal motivo, en esta revisión se discutirán los más relevantes que *M. tuberculosis* utiliza para favorecer su vida intracelular por largos periodos.

***M. tuberculosis* inhibe a los intermediarios reactivos del nitrógeno e intermediarios reactivos del oxígeno**

Los macrófagos son considerados células altamente dinámicas que desempeñan un papel fundamental en la defensa del hospedero contra *M. tuberculosis*. Una vez que los macrófagos alveolares fagocitan a *M. tuberculosis* se inicia una serie de mecanismos bactericidas por parte del sistema inmune innato.^{2,12} Uno de los más importantes se conoce como “estallido respiratorio”, cuyo objetivo es la eliminación de las bacterias fagocitadas.¹⁶ El mecanismo requiere el adecuado ensamblaje y activación de la enzima NADPH oxidasa para producir anión superóxido (O_2^-)¹⁷ y de la sintasa inducible de óxido nítrico (iNOS) para producir óxido nítrico (NO).¹⁸ En 1997 se identificó el gen *noxR1* en *M. tuberculosis*, el cual codifica para la proteína NoxR1,¹⁹ dicho gen solo se ha encontrado en cepas virulentas de *M. tuberculosis* y al parecer le confiere resistencia contra los radicales libres.

iNOS es una enzima cuya función en macrófagos es inducida por el estímulo de citocinas proinflamatorias como TNF α e IFN γ . Su función es favorecer la formación de NO^{18,20} cuando es reclutada en los fagosomas. Sin embargo, evidencia experimental sugiere que los fagosomas donde se encuentra *M. tuberculosis* excluyen a iNOS.²¹ Aparentemente la presencia de la enzima iNOS en el fagosoma es dependiente de una proteína llamada EBP50 (*Ezrin/radixin/moesin-binding phosphoprotein 50*).²² La función de EBP50 es mantener a las proteínas celulares ancladas a la actina del citoesqueleto. Sin embargo, los fagosomas que contienen a *M. tuberculosis* no retienen a EBP50 y en consecuencia se excluye a iNOS del fagosoma.²²

M. tuberculosis secreta proteínas con propiedades antigénicas a través de diversos sistemas de secreción como Sec, SecA2, ESX1.^{23,24} Se ha descrito que el sistema SecA2 es importante para la liberación de las enzimas superóxido dismutasa (SodA) y catalasa peroxidasa (KatG).²³ La función de ambas enzimas es mantener el fagosoma sin radicales libres. Debido a que SodA actúa sobre O_2^- para convertirlo en H_2O_2 y O_2 , H_2O_2 inmediatamente es transformado en H_2O y O_2 por la enzima KatG.²³ De esta manera, el ambiente intracelular

está exento de radicales libres, lo cual es benéfico para la sobrevivencia de la bacteria.²³⁻²⁵

Recientemente se describió que el sistema de secreción SecA2 también es un mecanismo importante que evita que el macrófago infectado produzca citocinas inflamatorias. Se ha observado que macrófagos infectados con la cepa H37Rv deficiente de *secA2* fueron capaces de controlar el crecimiento intracelular bacteriano, incrementando de manera considerable la producción de TNF α e IL6. Asimismo, aumentó la expresión de moléculas MHC-II e intermediarios reactivos del nitrógeno.²⁶ La disminución de iNOS también ha sido informada en ratones deficientes de *MyD88*^{-/-},²⁷ por lo que en este contexto es de interés evaluar la participación de otras vías de señalización como las dependientes de TLR (Figura 1).

***M. tuberculosis* inhibe la maduración del fagosoma**

La fagocitosis de *M. tuberculosis* es un proceso activo que depende de la interacción con diversos receptores de superficie expresados en las células presentadoras de antígeno, ejemplos de estos receptores son el receptor 3 de complemento (CR3), el receptor de manosa DC-SIGN y los receptores Fc.²⁸⁻³⁰ Sin embargo, cada uno puede tener un efecto distinto en la sobrevivencia de *M. tuberculosis* una vez que se encuentre dentro del macrófago. Se ha propuesto que la fagocitosis de patógenos a través de receptores Fc induce el estallido respiratorio y favorece la respuesta inflamatoria en macrófagos, mientras que la fagocitosis dependiente de

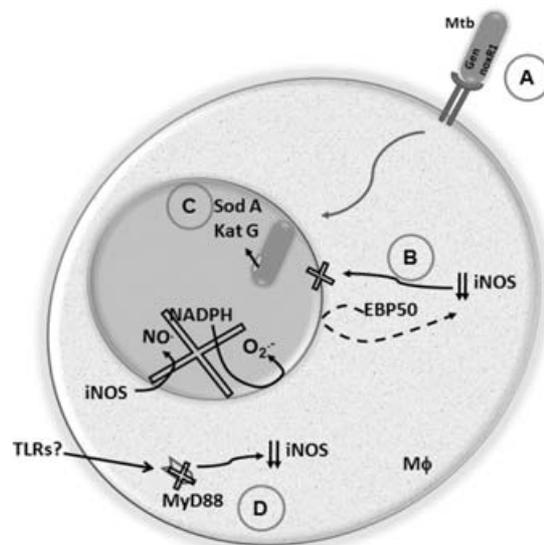


Figura 1. *M. tuberculosis* inhibe la formación de radicales libres. A) El gen *noxR1* de micobacterias patógenas inhibe la formación de radicales libres. B) El fagosoma infectado no retiene EBP50 y en consecuencia iNOS no ingresa al fagosoma para realizar su función. C) El sistema de secreción SecA2 de *M. tuberculosis* libera las enzimas SodA y KatG, las cuales neutralizan el efecto de los radicales libres. D) La deficiencia de moléculas MyD88 afecta la expresión de iNOS aunque se desconoce si algún TLR participa en regular a iNOS.

CR3 evita la activación del macrófago.³¹ Shilamada y colaboradores²⁸ informaron que el receptor de manosa puede inducir señales que inhiben la fusión fagolisosomal de una manera dependiente de glucosfolípidos. Por lo tanto, el receptor que utiliza *M. tuberculosis* para ingresar a la célula hospedera puede ser una estrategia benéfica que le ayuda a evadir su eliminación inmediata o a largo plazo.

Una vez que la bacteria se encuentra en el fagosoma se inicia un proceso de maduración cuya finalidad es la fusión del fagosoma con lisosomas. Los lisosomas contienen una gran cantidad de enzimas líticas que trabajan a pH de 4.5 a 5, lo que favorece un ambiente ácido idóneo para la degradación de las partículas fagocitadas.³² No obstante, desde la década de 1990 se ha demostrado que *M. tuberculosis* tiene la capacidad de detener el proceso de maduración fagosomal permaneciendo en un estadio de fagosoma temprano.³³ Inicialmente se observó que la falta de acidificación en los fagosomas que contenían a la micobacteria se debía a una exclusión de la ATPasa vacuolar.³⁴ La falta de acidificación por exclusión de ATPasa vacuolar tiene efectos negativos porque la degradación y presentación de antígeno no es eficiente. En 2006, Singh y colaboradores³⁵ demostraron que la ATPasa vacuolar es necesaria para la degradación de antígenos de *M. tuberculosis*, como el antígeno de 85 kDa.

Otra estrategia propuesta como responsable de evitar la fusión fagosoma-lisosoma fue descrita por Ferrari y colaboradores,³⁶ quienes demostraron que cerca de 90 % de los fagosomas que contienen bacilos vivos retienen una proteína denominada TACO (*tryptophane aspartate-containing coat protein*, también llamada P57 o coronina 1). La función de TACO es mantener unida la membrana plasmática con el citoplasma celular para de esta manera integrar las señales recibidas de manera extracelular con el citoplasma.³⁷ Otra observación aportada por el grupo de Ferrari es que cuando el macrófago fagocita a *M. tuberculosis*, la proteína tubulina se disocia inmediatamente de TACO y es liberada hacia el citoplasma, mientras que TACO permanece retenida en el fagosoma. No es claro si TACO modifica la polimerización de la tubulina y en consecuencia se inhiben algunas funciones de movilidad en el citoesqueleto, o si TACO bloquea algún receptor importante para que se lleve a cabo la fusión. Otro posible mecanismo de acción de TACO en la infección por *M. tuberculosis* fue propuesto por Jayachandran y colaboradores;³⁸ ellos sugirieron que TACO es capaz de evitar la fusión fagolisosomal debido a que regula procesos de señalización dependientes de calcio. Así, una vez que el macrófago ha sido infectado ocurre un influjo normal de calcio, sin embargo, al estar TACO retenida en el fagosoma hay ausencia de ésta en el citoplasma, en consecuencia, en ausencia de esta molécula no hay actividad de la calcineurina, la cual es necesaria para la fusión fagolisosomal. En infecciones por *Mycobacterium leprae* se observó que la retención de TACO se asocia a productos de secreción de la micobacteria en el fagosoma y no por una interacción directa con la micobacteria,³⁹ por lo que sería interesante determinar si los productos de secreción de *M. tuberculosis* también son eficientes para retener a TACO. Se ha propuesto que TACO permanece retenida en el fagosoma debido a que las mico-

bacterias patógenas liberan una enzima llamada LpdC (*lipamide dehydrogenase C*), la cual se une a TACO mediante interacciones dependientes de colesterol e IFN γ .⁴⁰

Otras proteínas del macrófago son las llamadas Rab, las cuales son GTPasas de bajo peso molecular que forman parte de la superfamilia de las proteínas Ras y están relacionadas en el proceso de fusión de membranas y transporte vesicular.⁴¹ Estas proteínas se han identificado como marcadores importantes de la maduración fagosomal, por ejemplo: Rab5 se encuentra en fagosomas tempranos, mientras que Rab7 en fagosomas tardíos.^{42,43} Sun y colaboradores publicaron que la micobacteria secreta un factor que inactiva la interacción de Rab7 con RILP (*Rab7-interacting lysosomal protein*), unión necesaria para que ocurra la fusión con los lisosomas.⁴⁴ También existe evidencia experimental que sugiere que Rab14 es reclutada y mantenida por largos periodos en los fagosomas que contienen *M. tuberculosis*; al parecer la bacteria inhabilita a Rab14 para que promueva la interacción fagosoma-lisosoma.⁴⁵

Recientemente, Master y colaboradores describieron que *M. tuberculosis* expresa un gen denominado *zmp1*, el cual codifica para la metaloproteasa Zn(z+), cuya función es evitar el procesamiento de la IL1 β que promueve un efecto negativo para la activación del inflamosoma y esto a su vez retarda la maduración fagosomal.⁴⁶ Sin embargo, Makino y colaboradores⁴⁷ demostraron *in vitro* que cuando los monocitos precursores de DC son incubados con IL1 β , la DC es ineficiente para estimular linfocitos T. Por lo que la función de la IL1 β en el contexto de la tuberculosis pulmonar no es concluyente.

Por otra parte, algunos glucolípidos de la pared micobacteriana pueden interactuar con diversos receptores en la célula hospedera, importantes para iniciar la respuesta inmune. Por ejemplo, los TLR pueden iniciar señales significativas de activación en la célula.¹¹ Posterior a la interacción TLR/ligando se inducen señales de activación celular en donde participa la vía de las MAPK cinasas. No obstante la activación de esta vía, puede interferir con la fusión del fagosoma porque la vía de las MAPK cinasas converge con la vía de las moléculas EEA1 (*early endosome autoantigen 1*) y Rab5, deteniendo el proceso de maduración fagosomal.⁴⁸ Al respecto, Jung y colaboradores informaron que cuando se activa la vía de las MAPK como consecuencia de la interacción de las glucoproteínas de 38 kDa de *M. tuberculosis* con TLR2 o TLR4, se favorece la secreción de citocinas proinflamatorias como TNF α e IL6.⁴⁹ De manera más reciente, Souza y colaboradores demostraron que la acidificación fagosomal es parcialmente dependiente de TLR2; la evidencia experimental sugiere que el bloqueo de este receptor incrementa la acidificación de los fagosomas.⁵⁰

Las citocinas también ejercen un efecto importante sobre el transporte endocítico; se ha señalado que la citocina IL6 induce la expresión de Rab5, lo que estimula compartimentos en etapas tempranas.⁵¹ Sobre esta misma citocina previamente se informó que cuando es secretada por macrófagos infectados, tiene la capacidad de inducir una respuesta subóptima al IFN γ en macrófagos no infectados.⁵²

Además de las funciones que se modifican en el macrófago a consecuencia de la infección por *M. tuberculosis*, se

han estudiado componentes de la micobacteria que pueden ser responsables de la inhibición de la fusión fagolisosomal. Por ejemplo, lipoarabinomanana (LAM) es un glucolípidos de membrana secretado dentro del fagosoma que contiene a la bacteria.⁵³ Se ha propuesto que LAM inhibe la fusión fagolisosomal debido a que tiene la capacidad de modificar tamaño, peso y estructura de los dominios "raft" ricos en colesterol-esfingomielina de las membranas fagosomales; estas modificaciones impiden una fusión adecuada,⁵⁴ aunque falta definir si estos raft "modificados" están involucrados para retener a la proteína TACO en el fagosoma. Existen informes donde células suprimidas de colesterol disminuyen su capacidad de fagocitosis pero promueven una adecuada fusión fagolisosomal.^{55,56} Por otra parte, la molécula fosfatidilinositol 3-fosfato (PI3-P) es un lípido que se genera de manera local en las membranas fagosomales y es el sitio de anclaje de proteínas como EEA1 y Hrs (*early endosome antigen 1* y *hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate*, respectivamente), las cuales están involucradas en el proceso de maduración fagosomal,^{57,58} siendo necesaria la presencia de PI3-P en el fagosoma para promover la fusión fagolisosomal. En este sentido, Vergne y colaboradores demostraron que *M. tuberculosis* secreta al citosol la fosfatasa lipídica SapM, la cual hidroliza al PI3-P, lo que promueve que continuamente PI3-P se esté eliminando de los fagosomas que contienen a la micobacteria, y en consecuencia no hay anclaje de las proteínas mencionadas para formar el fagolisosoma.⁵⁹ Este mecanismo de exclusión de PI3-P puede ser mediado principalmente por LAM.⁶⁰ La proteína PknG (*eukaryotic-like serine/threonine protein kinase G*) de *M. tuberculosis* también es secretada dentro del fagosoma y participa en la inhibición de la fusión fagosomal por un mecanismo poco claro.⁶¹ No obstante, Majlessi y colaboradores corroboran que la proteína PknG participa en la inhibición fagosomal sin afectar la presentación antigénica restringida al MHC-II.⁶²

MacGurn y colaboradores demuestran que las micobacterias deficientes del sistema de secreción ESX-1 son menos eficientes para sobrevivir dentro del macrófago y observaron que hay una fusión fagolisosomal efectiva, por lo que proponen que las proteínas liberadas por el sistema ESX-1 inhiben dicha maduración.⁶³ Xu y colaboradores⁶⁴ demuestran que a través del sistema de secreción ESX-1 en *M. marinum* se liberan cuatro proteínas: CFP10, ESAT6, MM1553 y Mh3881c, esta última es homóloga de Rv3881c en *M. tuberculosis*. Los autores señalan que la porción c-terminal de la proteína Mh3881c es requerida para que sea secretada ESAT6 y participe en la inhibición de la fusión fagolisosomal^{63,64} (Figura 2).

Regulación negativa de moléculas MHC-II

Los linfocitos T CD4+ son una población celular ampliamente estudiada en tuberculosis pulmonar; reconocen antígenos peptídicos presentados por moléculas MHC clase II y posteriormente secretan citocinas tipo Th1 como TNF α , IFN γ e IL2,^{65,66} promoviendo la activación y proliferación de macró-

fagos y otras poblaciones linfocitarias. Hmama y colaboradores informaron que los macrófagos infectados *in vitro* con *M. tuberculosis* disminuyen la expresión de MHC-II probablemente por un defecto en el transporte endocítico.⁶⁷ Posteriormente, Sánchez y colaboradores observaron que monocitos de sangre periférica de pacientes con tuberculosis pulmonar también tienen una expresión disminuida de MHC-II, específicamente la isoforma DR, aunque los niveles óptimos fueron recuperados después de iniciado el tratamiento antituberculoso.⁶⁸ La disminución en la expresión de MHC-II disminuye la presentación de antígenos a los linfocitos T CD4+, en consecuencia hay menor activación celular, producción de citocinas y reducción de los mecanismos micobactericidas, favoreciendo la supervivencia de *M. tuberculosis* dentro de los macrófagos infectados. Se ha informado que los linfocitos

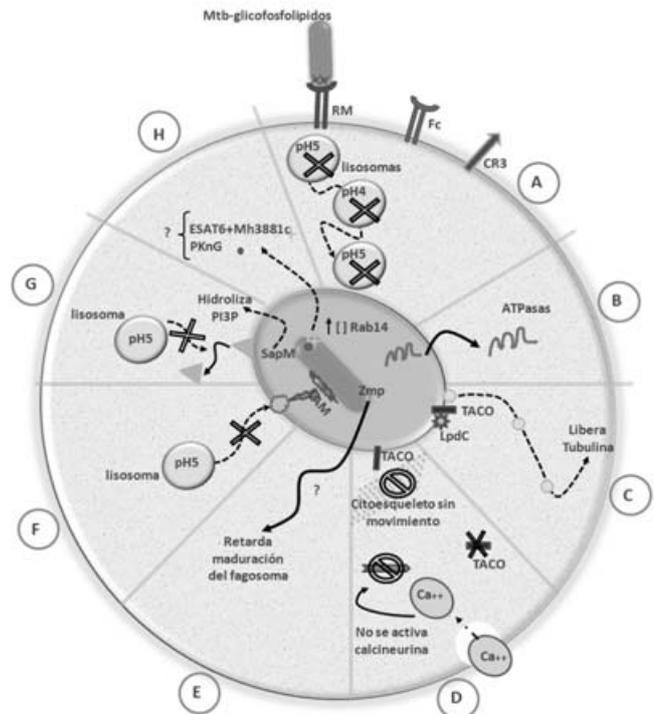


Figura 2. Inhibición del proceso de maduración fagolisosomal. A) *M. tuberculosis* favorece una fagocitosis mediada por receptor de manosa (MR) y este receptor puede evitar la fusión fagolisosomal. B) Los fagosomas infectados excluyen ATPasas, lo que evita una acidificación. C) La proteína TACO permanece retenida en el fagosoma, al parecer por la proteína LpdC, lo que promueve liberación de tubulina y un probable movimiento ineficiente del citoesqueleto. D) TACO regula los movimientos del citoesqueleto dependientes de calcio, pero al estar retenida en el fagosoma no ocurren estos movimientos. E) El gen *zmp* de *M. tuberculosis* puede inducir un retardo en la maduración fagosomal. F) LAM induce una modificación en los lípidos de la membrana fagosomal y en consecuencia no hay fusión con los lisosomas. G) SapM hidroliza a PI3-P, liberándose de la membrana fagosomal y, por lo tanto, no hay sitio de anclaje para moléculas que participan en la fusión fagolisosomal. H) ESAT6 requiere la porción c-terminal de Mh3881c para poder inhibir la fusión fagolisosomal. También es liberada la proteína PknG pero se desconoce su función.

T CD4+ de pacientes con tuberculosis pulmonar que son activados por el complejo HLA-DR2/péptido-*M. tuberculosis*, regulan de manera negativa la activación de células citotóxicas, dichos linfocitos TCD4+ reducen la producción de IFN γ e IL12,⁶⁹ aunque se requiere mayor evidencia experimental para determinar el papel de la isoforma DR2 en la infección por *M. tuberculosis*.

En el modelo murino se ha descrito que después de la infección *in vitro* por *M. tuberculosis* las DC no disminuyen la expresión de MHC-II, pero al igual que los macrófagos infectados son ineficientes para activar a los linfocitos T CD4+ probablemente por una respuesta disminuida al IFN γ .⁷⁰ Diversa evidencia experimental demuestra que la vía de señalización dependiente de TLR2 es importante para que se responda de manera deficiente al IFN γ .⁷¹⁻⁷³ Se ha descrito que algunos antígenos de *M. tuberculosis* pueden interactuar con TLR2, entre éstos las lipoproteínas LpqH (19 kDa) y LprG.^{74,75} De manera más reciente se aisló una tercera proteína denominada LprA, cuya función no es completamente clara debido a que al estar en co-cultivo con células dendríticas promueve un incremento en la expresión de las moléculas coestimuladoras CD80 y CD86, pero cuando LprA se pone en contacto con macrófagos induce disminución en la expresión de moléculas MHC-II y en consecuencia hay menor presentación de antígeno.⁷⁶ Aunque la disminución de moléculas MHC-II es un mecanismo de defensa que utiliza *M. tuberculosis* para sobrevivir y modificar la respuesta inmune, no es completamente

clara la participación de los diferentes antígenos de *M. tuberculosis* y su impacto en la expresión de MHC-II (Figura 3).

Necrosis versus apoptosis

Uno de los mecanismos que utiliza el hospedero para defenderse de *M. tuberculosis* es la muerte celular por apoptosis,^{77,78} la cual puede ser desencadenada por dos vías distintas: la intrínseca (dependiente de daño mitocondrial) o la extrínseca (dependiente de receptores de muerte). La apoptosis depende de la activación de una cascada de proteínas llamadas caspasas, las cuales mediante una serie de procesos enzimáticos degradan el ADN e inducen la formación de cuerpos apoptóticos que son fagocitados por otras células para evitar que se libere el contenido intracelular. Otro tipo de muerte celular es por necrosis, proceso que ocurre en menos tiempo y permite que el contenido intracelular se libere debido a que la célula "estalla".⁷⁹ En la infección por *M. tuberculosis* está ampliamente documentado que las cepas patógenas evaden frecuentemente la apoptosis con la finalidad de disminuir la presentación antigénica y favorecen la necrosis para facilitar la infección de nuevas células.⁸⁰⁻⁸²

Existen informes de antígenos de *M. tuberculosis* que tienen la capacidad de inducir apoptosis, por ejemplo, López y colaboradores informaron que la porción proteica de la lipoproteína de 19 kDa induce apoptosis en células fagocíticas por un mecanismo que depende de la interacción con TLR2 y de la participación de la caspasa-8, pero no de la caspasa-9.⁸³ A diferencia de este informe, Lee y colaboradores describieron una apoptosis independiente de caspasas y al parecer dependiente de proteasas lisosomales, que puede observarse cuando infectan macrófagos murinos con alto MOI (*multiplicities of infection*).⁸⁴ Al respecto, O'Sullivan y colaboradores coinciden en que altos MOI de infección promueven una apoptosis independiente de caspasas pero no la apoptosis clásica, ya que carece de características fundamentales de este proceso, por ejemplo, no ocurre la fragmentación nuclear.⁸⁵

Un mecanismo asociado a mayor necrosis de macrófagos infectados fue descrito por Chen M y colaboradores, quienes demuestran que la cepa patógena H37Rv promueve la formación de un poro mitocondrial que afecta a la membrana interna y externa de la mitocondria, lo que ocasiona pérdida del potencial de membrana y en consecuencia se genera un gradiente de protones que altera la cadena respiratoria, esto aumenta la producción de anión superóxido y, finalmente, la muerte por necrosis.⁸⁶ Park JS y colaboradores concluyeron que las células fagocíticas infectadas con cepas clínicas virulentas morían en su mayoría por necrosis.⁸⁷

Otras tácticas que utiliza *M. tuberculosis* para inhibir el proceso apoptótico han sido analizadas a través del estudio de ciertos genes. En 2007 se identificó el gen *nuoG* que solo está presente en las cepas patógenas de *M. tuberculosis*, el cual al parecer le confiere la propiedad de evadir la apoptosis en macrófagos infectados.⁸⁸ El mecanismo de evasión puede estar asociado a la sobreexpresión de la molé-

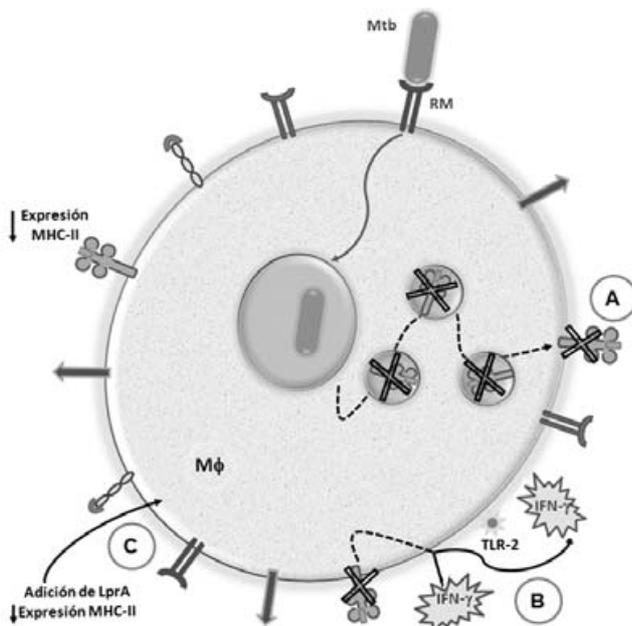


Figura 3. Regulación negativa de la expresión de moléculas MHC-II. A) *M. tuberculosis* puede afectar el transporte endocítico de moléculas MHC-II. B) Los antígenos de la micobacteria al interactuar con TLR2 promueven una respuesta disminuida al IFN γ , lo que causa la disminución de MHC-II. C) En el macrófago LprA induce una disminución en la expresión de MHC-II. MR = receptor de manosa. MHC-II = moléculas del complejo principal de histocompatibilidad clase II.

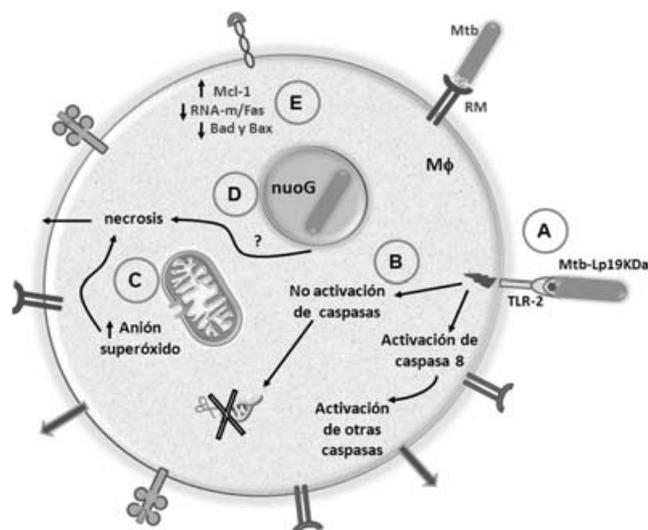


Figura 4. Necrosis versus apoptosis en infección por *M. tuberculosis*. A) Al interactuar TLR2 con la lipoproteína de 19 kDa induce muerte celular a través de caspasa-8. B) También se ha observado muerte independiente de caspasas sin fragmentación de ADN. C) *M. tuberculosis* puede dañar la capa externa e interna de la mitocondria, lo que favorece la pérdida del potencial de membrana, aumento de anión superóxido y finalmente necrosis. D) El gen *nuoG* favorece la necrosis por un mecanismo no esclarecido. E) También hay aumento de la molécula antiapoptótica Mcl-1 y disminución de RNAm para Fas y moléculas Bax y Bad, lo cual favorece la inhibición de la apoptosis.

cula antiapoptótica Mcl-1, cuya función es promover la integridad de la membrana mitocondrial. Parece que solo las cepas patógenas como H37Rv son capaces de inducir la sobreexpresión de Mcl-1.⁸⁹ Asociado al incremento en la expresión de Mcl-1 se ha encontrado que hay disminución en el RNAm para Fas, proceso que favorece la proliferación bacteriana intracelular.⁹⁰ En diversos modelos de infección con *M. leprae* se ha descrito que aunado al incremento de Mcl-1, la bacteria es capaz de inducir disminución de las moléculas proapoptóticas Bad y Bax,⁹¹ siendo necesario realizar una caracterización completa de las diferentes moléculas involucradas en un proceso de apoptosis durante la infección por *M. tuberculosis*, lo cual puede facilitar el desarrollo de futuros blancos terapéuticos para inducir apoptosis, evitar la muerte por necrosis y un mejor control en la replicación de *M. tuberculosis* (Figura 4).

Conclusiones

M. tuberculosis es un patógeno intracelular cuyo éxito de supervivencia consiste en su gran capacidad para evadir la respuesta inmune de su hospedero. En este sentido se han descrito vías de secreción en la micobacteria que liberan enzimas que neutralizan los radicales libres. Este efecto puede también ser mediado por el gen *noxR1*. El proceso de

inhibición de la fusión fagolisosomal es otro mecanismo por el que la micobacteria permanece en el macrófago, y puede ser consecuencia de proteínas del microambiente intracelular como TACO, EBP50 o PI3-P, o extracelulares como L6, o incluso por efecto de genes propios de la bacteria como *zmp1*. Otra estrategia eficiente para *M. tuberculosis* es inducir disminución en la expresión de moléculas MHC-II, ya que de esta manera evita la activación de poblaciones celulares e induce que su célula hospedero tenga una respuesta disminuida a IFN o mediante un transporte endocítico ineficiente. Finalmente, aunque existen informes respecto a que en la infección por *M. tuberculosis* se promueve la muerte por necrosis mediante daño mitocondrial, al parecer esto le da ventaja para infectar nuevas células vecinas, así también se informan procesos de apoptosis que no presentan características propias de este tipo de muerte.

Referencias

1. World Health Organization. Global TB control report 2008. Geneva, Switzerland: WHO; 2008.
2. Martino A. Mycobacteria and innate cells: critical encounter for immunogenicity. *J Biosci* 2008;33:137-144.
3. Stenger S. Immunological control of tuberculosis: role of tumour necrosis factor and more. *Ann Rheum Dis* 2005;64:iv24- iv28.
4. Brown AK, Bhatt A, Singh A, Salaria E, Evans AF, Besra GS. Identification of the dehydratase component of the mycobacterial mycolic acid-synthesizing fatty acid synthase-II complex. *Microbiology* 2007;153:4166-4173.
5. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 1998;393:537-544.
6. Bhatt A, Fujiwara N, Bhatt K, Gurcha SS, Kremer L, Chen B, et al. Deletion of *kasB* in *Mycobacterium tuberculosis* causes loss of acid-fastness and subclinical latent tuberculosis in immunocompetent mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:5157-5162.
7. Bulut Y, Michelsen KS, Hayrapetian L, Naiki Y, Spallek R, Singh M, et al. *Mycobacterium tuberculosis* heat shock proteins use diverse Toll-like receptor pathways to activate pro-inflammatory signals. *J Biol Chem* 2005;280:20961-20967.
8. Pompei L, Jang S, Zamlynny B, Ravikumar S, McBride A, Hickman SP, et al. Disparity in IL-12 release in dendritic cells and macrophages in response to *Mycobacterium tuberculosis* is due to use of distinct TLRs. *J Immunol* 2007;178:5192-5199.
9. Puissegur MP, Lay G, Gilleron M, Botella L, Nigou J, Marrakchi H, et al. Mycobacterial lipomannan induces granuloma macrophage fusion via a TLR2-dependent, ADAM9- and beta integrin-mediated pathway. *J Immunol* 2007;178:3161-3169.
10. Aliprantis AO, Yang RB, Mark MR, Suggest S, Devaux B, Radolf JD, et al. Cell activation and apoptosis by bacterial lipoproteins through toll-like receptor-2. *Science* 1999;285:736-739.
11. Brightbill HD, Libraty DH, Krutzik SR, Yang RB, Belisle JT, Bleharski JR, et al. Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. *Science* 1999;285:732-736.
12. Russell DG. Who puts the tubercle in tuberculosis? *Nat Rev Microbiol* 2007;5:39-47.
13. Huang D, Shen Y, Qiu L, Chen CY, Shen L, Estep J, et al. Immune distribution and localization of phosphoantigen-specific Vγ2Vδ2 T cells in lymphoid and nonlymphoid tissues in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Infect Immun* 2008;76:426-436.
14. Kulpraneet M, Sukwit S, Sumransurp K, Chuenchitra T, Santiwatanakul S, Srisurapanon S. Cytokine production in NK and NKT cells from *Mycobacterium tuberculosis* infected patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2007;38:370-375.
15. Hernández-Pando R, Jeyanathan M, Mengistu G, Aguilar D, Orozco H, Harboe M, et al. Persistence of DNA from *Mycobacterium tuberculosis* in superficially normal lung tissue during latent infection. *Lancet* 2000;356:2133-2138.
16. Iles KE, Forman HJ. Macrophage signaling and respiratory burst. *Immunol Res* 2002;26:95-105.
17. Singh R, Wiseman B, Deemagarn T, Donald LJ, Duckworth HW, Carpene X, et al. Catalase-peroxidases (KatG) exhibit NADH oxidase activity. *J Biol Chem* 2004;279:43098-43106.

18. **MacMicking JD, North RJ, LaCourse R, Mudgett JS, Shah SK, Nathan CF.** Identification of nitric oxide synthase as a protective locus against tuberculosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:5243-5248.
19. **Ehrt S, Shiloh MU, Ruan J, Choi M, Gunzburg S, Nathan C, et al.** A novel antioxidant gene from *Mycobacterium tuberculosis*. *J Exp Med* 1997;186:1885-1896.
20. **Lin QY, Jin LJ, Cao ZH, Xu YP.** Inhibition of inducible nitric oxide synthase by *Acanthopanax senticosus* extract in RAW264.7 macrophages. *J Ethnopharmacol* 2008;118:231-236.
21. **Miller BH, Fratti RA, Poschet JF, Timmins GS, Master SS, Burgos M, et al.** *Mycobacteria* inhibit nitric oxide synthase recruitment to phagosomes during macrophage infection. *Infect Immun* 2004;72:2872-2878.
22. **Davis AS, Vergne I, Master SS, Kyei GB, Chua J, Deretic V.** Mechanism of Inducible Nitric Oxide Synthase Exclusion from *Mycobacterial* Phagosomes. *PLoS Pathog* 2007;3:e186.
23. **Braunstein M, Espinosa BJ, Chan J, Belisle JT, Jacobs WR Jr.** SecA2 functions in the secretion of superoxide dismutase A and in the virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Microbiol* 2003;48:453-464.
24. **McLaughlin B, Chon JS, MacGurn JA, Carlsson F, Cheng TL, Cox JS, et al.** A *Mycobacterium* ESX-1-secreted virulence factor with unique requirements for export. *PLoS Pathog* 2007;3:e105.
25. **Ng VH, Cox JS, Sousa AO, MacMicking JD, McKinney JD.** Role of KatG catalase-peroxidase in *Mycobacterial* pathogenesis: countering the phagocyte oxidative burst. *Mol Microbiol* 2004;52:1291-1302.
26. **Kurtz S, McKinnon KP, Runge MS, Ting JP, Braunstein M.** The SecA2 secretion factor of *Mycobacterium tuberculosis* promotes growth in macrophages and inhibits the host immune response. *Infect Immun* 2006;74:6855-6864.
27. **Scanga CA, Bafica A, Feng CG, Cheever AW, Hieny S, Sher A.** MyD88-deficient mice display a profound loss in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* associated with partially impaired Th1 cytokine and nitric oxide synthase 2 expression. *Infect Immun* 2004;72:2400-2404.
28. **Shimada K, Takimoto H, Yano I, Kumazawa Y.** Involvement of mannose receptor in glycopeptidolipid-mediated inhibition of phagosome-lysosome fusion. *Microbiol Immunol* 2006;50:243-251.
29. **Le Cabec V, Carréno S, Moisan D, Bordier C, Maridonneau-Parini I.** Complement receptor 3 (CD11b/CD18) mediates type I and type II phagocytosis during nonopsonic and opsonic phagocytosis, respectively. *J Immunol* 2002;169:2003-2009.
30. **Tailleux L, Schwartz O, Herrmann JL, Pivert E, Jackson M, Amara A, et al.** DC-SIGN is the major *Mycobacterium tuberculosis* receptor on human dendritic cells. *J Exp Med* 2003;197:121-127.
31. **Caron E, Hall A.** Identification of two distinct mechanisms of phagocytosis controlled by different Rho GTPases. *Science* 1998;282:1717-1721.
32. **Harrison RE, Bucci C, Vieira OV, Schroer TA, Grinstein S.** Phagosomes fuse with late endosomes and/or lysosomes by extension of membrane protrusions along microtubules: role of Rab7 and RILP. *Mol Cell Biol* 2003;23:6494-6506.
33. **Clemens DL, Horwitz MA.** Characterization of the *Mycobacterium tuberculosis* phagosome and evidence that phagosomal maturation is inhibited. *J Exp Med* 1995;181:257-270.
34. **Sturgill-Koszycki S, Schlesinger PH, Chakraborty P, Haddix PL, Collins HL, Fok AK, et al.** Lack of acidification in *Mycobacterium tuberculosis* phagosomes produced by exclusion of the vesicular proton-ATPase. *Science* 1994;263(5147):678-681.
35. **Singh CR, Moulton RA, Armitage LY, Bidani A, Snuggs M, Dhandayuthapani S, et al.** Processing and presentation of a *Mycobacterium tuberculosis* 85B epitope by murine macrophages is dependent on the phagosomal acquisition of vacuolar proton ATPase and in situ activation of cathepsin D. *J Immunol* 2006;177:3250-3259.
36. **Ferrari G, Langen H, Naito M, Pieters J.** A coat protein on phagosomes involved in the intracellular survival of *Mycobacteria*. *Cell* 1999;97:435-447.
37. **Gatfield J, Albrecht I, Zanolari B, Steinmetz MO, Pieters J.** Association of the leukocyte plasma membrane with the actin cytoskeleton through coiled coil-mediated trimeric coronin 1 molecules. *Mol Biol Cell* 2005;16:2786-2798.
38. **Jayachandran R, Sundaramurthy V, Combaluzier B, Mueller P, Korf H, Huygen K, et al.** Survival of *Mycobacteria* in macrophages is mediated by coronin 1-dependent activation of calcineurin. *Cell* 2007;130:37-50.
39. **Suzuki K, Takeshita F, Nakata N, Ishii N, Makino M.** Localization of CORO1A in the macrophages containing *Mycobacterium leprae*. *Acta Histochem Cytochem* 2006;39:107-112.
40. **Dehmane AE, Soualhine H, Bach H, Sendide K, Itoh S, Tam A, et al.** Lipoamide dehydrogenase mediates retention of coronin-1 on BCG vacuoles, leading to arrest in phagosome maturation. *J Cell Sci* 2007;120:2796-806.
41. **Wickner W, Schekman R.** Membrane fusion. *Nat Struct Mol Biol* 2008;15:658-664.
42. **Vieira OV, Bucci C, Harrison RE, Trimble WS, Lanzetti L, Gruenberg J, et al.** Modulation of Rab5 and Rab7 recruitment to phagosomes by phosphatidylinositol 3-kinase. *Mol Cell Biol* 2003;23:2501-2514.
43. **Bucci C, Parton RG, Mather IH, Stunnenberg H, Simons K, Hoflack B, et al.** The small GTPase rab5 functions as a regulatory factor in the early endocytic pathway. *Cell* 1992;70:715-728.
44. **Sun J, Deghmane AE, Soualhine H, Hong T, Bucci C, Solodkin A, et al.** *Mycobacterium bovis* BCG disrupts the interaction of Rab7 with RILP contributing to inhibition of phagosome maturation. *J Leukoc Biol* 2007;82:1437-1445.
45. **Kyei GB, Vergne I, Chua J, Roberts E, Harris J, Junutula JR, et al.** Rab14 is critical for maintenance of *Mycobacterium tuberculosis* phagosome maturation arrest. *EMBO J* 2006;25:5250-5259.
46. **Master SS, Rampini SK, Davis AS, Keller C, Ehlers S, Springer B, et al.** *Mycobacterium tuberculosis* prevents inflammasome activation. *Cell Host Microbe* 2008;3:224-232.
47. **Makino M, Maeda Y, Mukai T, Kaufmann SH.** Impaired maturation and function of dendritic cells by *Mycobacteria* through IL-1beta. *Eur J Immunol* 2006;36:1443-1452.
48. **Fratti RA, Chua J, Deretic V.** Induction of p38 mitogen-activated protein kinase reduces early endosome autoantigen 1 (EEA1) recruitment to phagosomal membranes. *J Biol Chem* 2003;278:46961-46967.
49. **Jung SB, Yang CS, Lee JS, Shin AR, Jung SS, Son JW, et al.** The *Mycobacterium tuberculosis* 38-kilodalton glycolipoprotein antigen activates the mitogen-activated protein kinase pathway and release of proinflammatory cytokines through Toll-like receptors 2 and 4 in human monocytes. *Infect Immun* 2006;74:2686-2696.
50. **Souza CD, Evanson OA, Weiss DJ.** Role of cell membrane receptors in the suppression of monocyte anti-microbial activity against *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Microb Pathog* 2008;44:215-223.
51. **Bhattacharya M, Ojha N, Solanki S, Mukhopadhyay CK, Madan R, Patel N, et al.** IL-6 and IL-12 specifically regulate the expression of Rab5 and Rab7 via distinct signaling pathways. *EMBO J* 2006;25:2878-2888.
52. **Nagabhushanam V, Solache A, Ting LM, Escaron CJ, Zhang JY, Ernst JD.** Innate inhibition of adaptive immunity: *Mycobacterium tuberculosis*-induced IL-6 inhibits macrophage responses to IFN-gamma. *J Immunol* 2003;171:4750-4757.
53. **Sibley LD, Hunter SW, Brennan PJ, Krahenbuhl JL.** *Mycobacterial* lipoarabinomannan inhibits gamma interferon-mediated activation of macrophages. *Infect Immun* 1988;56:1232-1236.
54. **Hayakawa E, Tokumasu F, Nardone GA, Jin AJ, Hackley VA, Dvorak JA.** A *Mycobacterium tuberculosis*-derived lipid inhibits membrane fusion by modulating lipid membrane domains. *Biophys J* 2007;93:4018-4030.
55. **De Chastellier C, Thilo L.** Cholesterol depletion in *Mycobacterium avium*-infected macrophages overcomes the block in phagosome maturation and leads to the reversible sequestration of viable *Mycobacteria* in phagolysosome-derived autophagic vacuoles. *Cell Microbiol* 2006;8:242-256.
56. **Kaul D, Anand PK, Verma I.** Cholesterol-sensor initiates *M. tuberculosis* entry into human macrophages. *Mol Cell Biochem* 2004;258:219-222.
57. **Raiborg C, Bache KG, Mehlum A, Stang E, Stenmark H.** Hrs recruits clathrin to early endosomes. *EMBO J* 2001;20:5008-5021.
58. **Patki V, Virbasius J, Lane WS, Toh BH, Shpetner HS, Corvera S.** Identification of an early endosomal protein regulated by phosphatidylinositol 3-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:7326-7330.
59. **Vergne I, Chua J, Lee HH, Lucas M, Belisle J, Deretic V.** Mechanism of phagolysosome biogenesis block by viable *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:4033-4038.
60. **Fratti RA, Chua J, Vergne I, Deretic V.** *Mycobacterium tuberculosis* glycosylated phosphatidylinositol causes phagosome maturation arrest. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:5437-5442.
61. **Walburger A, Koul A, Ferrari G, Nguyen L, Prescianotto-Baschong C, Huygen K, et al.** Protein kinase G from pathogenic *Mycobacteria* promotes survival within macrophages. *Science* 2004;304:1800-1804.
62. **Majlessi L, Combaluzier B, Albrecht I, Garcia JE, Nouze C, Pieters J, et al.** Inhibition of phagosome maturation by *Mycobacteria* does not interfere with presentation of *Mycobacterial* antigens by MHC molecules. *J Immunol* 2007;179:1825-1833.
63. **MacGurn JA, Cox JS.** A genetic screen for *Mycobacterium tuberculosis* mutants defective for phagosome maturation arrest identifies components of the ESX-1 secretion system. *Infect Immun* 2007;75:2668-2678.
64. **Xu J, Laine O, Masciocchi M, Manoranjan J, Smith J, Du SJ, et al.** A unique *Mycobacterium* ESX-1 protein co-secreted with CFP-10/ESAT-6 and is necessary for inhibiting phagosome maturation. *Mol Microbiol* 2007;66:787-800.
65. **Antas PR, Sales JS, Pereira KC, Oliveira EB, Cunha KS, Sarno EN, et al.** Patterns of intracellular cytokines in CD4 and CD8 T cells from patients with *Mycobacterial* infections. *Braz J Med Biol Res* 2004;37:1119-1129.
66. **Millington KA, Innes JA, Hackforth S, Hinks TS, Deeks JJ, Dosanjh DP, et al.** Dynamic relationship between IFN-gamma and IL-2 profile of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cells and antigen load. *J Immunol* 2007;178:5217-5226.
67. **Hmama Z, Gabathuler R, Jefferies AR, 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.
68. **Sánchez MD, García Y, Montes C, París SC, Rojas M, Barrera LF, et al.** Functional and phenotypic changes in monocytes from patients with tuberculosis are reversed with treatment. *Microbes Infect* 2006;8:2492-2500.

69. **Rajeswari DN, Selvaraj P, Raghavan S, Jawahar MS, Narayanan PR.** Influence of HLA-DR2 on perforin-positive cells in pulmonary tuberculosis. *Int J Immunogenet* 2007;34:379-384.
70. **Wolf AJ, Linas B, Trevejo-Núñez GJ, Kincaid E, Tamura T, Takatsu K, et al.** Mycobacterium tuberculosis infects dendritic cells with high frequency and impairs their function in vivo. *J Immunol* 2007;179:2509-2519.
71. **Kincaid EZ, Wolf AJ, Desvignes L, Mahapatra S, Crick DC, Brennan PJ, et al.** Codominance of TLR2-dependent and TLR2-independent modulation of MHC class II in Mycobacterium tuberculosis infection in vivo. *J Immunol* 2007;179:3187-3195.
72. **Lafuse WP, Álvarez GR, Curry HM, Zwilling BS.** Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium avium inhibit IFN- γ -induced gene expression by TLR2-dependent and independent pathways. *J Interferon Cytokine Res* 2006;26:548-561.
73. **Fortune SM, Solache A, Jaeger A, Hill PJ, Belisle JT, Bloom BR, et al.** Mycobacterium tuberculosis inhibits macrophage responses to IFN- γ through myeloid differentiation factor 88-dependent and -independent mechanisms. *J Immunol* 2004;172:6272-6280.
74. **Banaiee N, Kincaid EZ, Buchwald U, Jacobs WR Jr, Ernst JD.** Potent inhibition of macrophage responses to IFN- γ by live virulent Mycobacterium tuberculosis is independent of mature mycobacterial lipoproteins but dependent on TLR2. *J Immunol* 2006;176:3019-3027.
75. **Gehring AJ, Dobos KM, Belisle JT, Harding CV, Boom WH.** Mycobacterium tuberculosis LprG (Rv1411c): a novel TLR-2 ligand that inhibits human macrophage class II MHC antigen processing. *J Immunol* 2004;173:2660-2668.
76. **Pecora ND, Gehring AJ, Canaday DH, Boom WH, Harding CV.** Mycobacterium tuberculosis LprA is a lipoprotein agonist of TLR2 that regulates innate immunity and APC function. *J Immunol* 2006;177:422-429.
77. **Placido R, Mancino G, Amendola A, Mariani F, Vendetti S, Piacentini M, et al.** Apoptosis of human monocytes/macrophages in Mycobacterium tuberculosis infection. *J Pathol* 1997;181:31-38.
78. **Danelishvili L, McGarvey J, Li YJ, Bermúdez LE.** Mycobacterium tuberculosis infection causes different levels of apoptosis and necrosis in human macrophages and alveolar epithelial cells. *Cell Microbiol* 2003;5:649-660.
79. **Edinger AL, Thompson CB.** Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. *Curr Opin Cell Biol* 2004;16:663-669.
80. **Keane J, Remold HG, Kornfeld H.** Virulent Mycobacterium tuberculosis strains evade apoptosis of infected alveolar macrophages. *J Immunol* 2000;164:2016-2020.
81. **Schaible UE, Winau F, Sieling PA, Fischer K, Collins HL, Hagens K, et al.** Apoptosis facilitates antigen presentation to T lymphocytes through MHC-I and CD1 in tuberculosis. *Nat Med* 2003;9:1039-1046.
82. **Winau F, Weber S, Sad S, de Diego J, Hoops SL, Breiden B, et al.** Apoptotic vesicles crossprime CD8 T cells and protect against tuberculosis. *Immunity* 2006;24:105-117.
83. **López M, Sly LM, Luu Y, Young D, Cooper H, Reiner NE.** The 19-kDa Mycobacterium tuberculosis protein induces macrophage apoptosis through Toll-like receptor-2. *J Immunol* 2003;170:2409-2416.
84. **Lee J, Remold HG, leong MH, Kornfeld H.** Macrophage apoptosis in response to high intracellular burden of Mycobacterium tuberculosis is mediated by a novel caspase-independent pathway. *J Immunol* 2006;176:4267-4274.
85. **O'Sullivan MP, O'Leary S, Kelly DM, Keane J.** A caspase-independent pathway mediates macrophage cell death in response to Mycobacterium tuberculosis infection. *Infect Immun* 2007;75:1984-1993.
86. **Chen M, Gan H, Remold HG.** A mechanism of virulence: virulent Mycobacterium tuberculosis strain H37Rv, but not attenuated H37Ra, causes significant mitochondrial inner membrane disruption in macrophages leading to necrosis. *J Immunol* 2006;176:3707-3716.
87. **Park JS, Tamayo MH, González-Juarrero M, Orme IM, Ordway DJ.** Virulent clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis grow rapidly and induce cellular necrosis but minimal apoptosis in murine macrophages. *J Leukoc Biol* 2006;79:80-86.
88. **Velmurugan K, Chen B, Miller JL, Azogue S, Gurses S, Hsu T, et al.** Mycobacterium tuberculosis nuoG is a virulence gene that inhibits apoptosis of infected host cells. *PLoS Pathog* 2007;3:e110.
89. **Sly LM, Hingley-Wilson SM, Reiner NE, McMaster WR.** Survival of Mycobacterium tuberculosis in host macrophages involves resistance to apoptosis dependent upon induction of antiapoptotic Bcl-2 family member Mcl-1. *J Immunol* 2003;170:430-437.
90. **Zhang J, Jiang R, Takayama H, Tanaka Y.** Survival of virulent Mycobacterium tuberculosis involves preventing apoptosis induced by Bcl-2 upregulation and release resulting from necrosis in J774 macrophages. *Microbiol Immunol* 2005;49:845-852.
91. **Hasan Z, Ashraf M, Tayyebi A, Hussain R.** M. leprae inhibits apoptosis in THP-1 cells by downregulation of bad and bak and upregulation of Mcl-1 gene expression. *BMC Microbiol* 2006;6:78.