

La inmunidad antituberculosa y su aplicación en el desarrollo de candidatos vacunales

María de los Ángeles García, María Elena Sarmiento, Armando Acosta

Instituto Finlay, Centro de Investigación-Producción de Vacunas. Ave. 27 No. 19805. La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba.

email: mangleles@finlay.edu.cu

La incidencia de la tuberculosis ha alcanzado proporciones alarmantes. BCG, única vacuna disponible para su prevención en humanos, ha sido ineficiente, comprobado en varias pruebas de campo. Por ello es imperiosa la necesidad de lograr nuevas vacunas contra la tuberculosis. Una mejor comprensión de la respuesta inmune inducida durante la infección por *Mycobacterium tuberculosis* pudiera ayudar a obtener en relativo corto tiempo la vacuna deseada contra este microorganismo. El objetivo de la presente revisión es mostrar una panorámica general acerca del ciclo de infección de *Mycobacterium tuberculosis*, las principales células efectoras que participan en la inmunidad antituberculosa y las estrategias fundamentales para el desarrollo de vacunas contra esta enfermedad.

Palabras clave: Tuberculosis, inmunidad, vacunas.

Introducción

La tuberculosis (TB) constituye una infección bacteriana cuyo principal agente etiológico es *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Su origen es tan antiguo como la propia historia de la humanidad, su aparición tuvo lugar en el Período Neolítico. Ciertas hipótesis sobre el surgimiento de la enfermedad en humanos consideran que pudo haber ocurrido por la transmisión de la infección a partir de animales infectados, lo cual estuvo vinculado con el desarrollo de la agricultura y la domesticación de animales.

Específicamente se presuponía que *Mycobacterium bovis*, el cual provoca una enfermedad similar en bovinos, podría ser el precursor en la evolución hacia *M. tuberculosis*. No obstante, actualmente se duda de esta hipótesis debido a recientes hallazgos encontrados a partir de la caracterización de los genomas de las especies pertenecientes al complejo *M. tuberculosis* a través de la secuenciación del ADN y otros métodos relacionados.

En sus comienzos los brotes de la TB se caracterizaron por ser esporádicos, sin embargo con la llegada de la revolución industrial por los años 1700 se produjo un incremento considerable de brotes que adquirieron características epidémicas. Esta tendencia estuvo asociada con el deterioro de las condiciones de vida, el incremento de la densidad poblacional y el hacinamiento que, conjuntamente con las constantes migraciones humanas y la colonización de las poblaciones de los diferentes países y continentes, contribuyeron de manera ostensible a propagar y diseminar la enfermedad por el mundo.

Posteriormente ya en el siglo XX se observa una declinación en el grado de incidencia de la TB, particularmente en los países desarrollados, íntimamente ligado al mejoramiento

de las condiciones de vida y por tanto de las condiciones higiénico-sanitarias. Al mismo tiempo, este fenómeno se ve potenciado con la introducción de la vacuna BCG desarrollada por los científicos franceses Calmette y Guérin (1), así como el uso de nuevos agentes antimicrobianos, tales como: estreptomycin (1943), isoniazida (1952), y rifampicina (1963).

Sin embargo, a pesar de estos avances, podemos afirmar que la TB aún constituye un flagelo para la humanidad, siendo la causa principal de numerosas defunciones provocadas por un agente infeccioso (2). La incidencia actual de esta enfermedad ha alcanzado proporciones alarmantes, por lo que en 1993 la Organización Mundial de la Salud (OMS) la catalogó como una enfermedad de emergencia global.

Varios factores han tenido un alto impacto en el empeoramiento de la situación epidemiológica de la TB en algunas áreas del mundo, entre las cuales tenemos: la aparición de cepas resistentes a múltiples drogas, lo que constituye un serio problema de salud pública (3); la asociación de la TB con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), lo que produce un sinergismo en sus efectos y causa un creciente número de casos y muertes (4), y el agravamiento de las condiciones socioeconómicas en muchas áreas del mundo.

Sumado a estos factores se encuentran, además, las limitaciones propias de los sistemas de diagnóstico disponibles, entre los cuales tenemos como métodos clásicos: el estudio bacteriológico del esputo y su cultivo, la prueba de la tuberculina (PPD) para estudios in vivo y más recientemente métodos moleculares como el PCR, entre otros. Por último, la inconsistencia en la eficacia mostrada en numerosas regiones del mundo por la única vacuna

aprobada contra la TB para uso en humanos hasta la actualidad (BCG), obviamente contribuye también a que esta enfermedad continúe azotando a la humanidad. Esta vacuna considerada como la más utilizada mundialmente (5), ha mostrado rangos de eficacia muy variables que oscilan entre el 0% y el 80% (6). La misma ofrece protección sólo contra las formas severas de la enfermedad en la infancia y no así contra la forma pulmonar en la población adulta (7), siendo esta última la más común y la vía más frecuente de transmisión.

Informes de la OMS reflejan el alto impacto de la TB a escala global, al señalar que, por ejemplo, ya para el año 2005 su incidencia alcanza los 8,8 millones de casos, con una tasa de mortalidad de 2 millones de personas por año (8). Esto manifiesta la gravedad de la situación en términos de cifras, sin contar, además, el gran número de personas que tienen la enfermedad en forma latente (9). Por eso se asegura que más de un tercio de la población mundial está infectada por este patógeno (2).

La comunidad científica mundial realiza grandes esfuerzos para erradicar esta afección y para ello aborda varias estrategias. Entre ellas, el desarrollo de nuevas vacunas contra la TB que conjuntamente con la acción de nuevos fármacos antituberculosos pudieran contribuir a su control y futura erradicación.

Los avances científicos recientes permiten tener un mejor conocimiento acerca de la biología del microorganismo causante de la enfermedad, así como de los aspectos relacionados con la inmunidad protectora frente a *M. tuberculosis*, lo que pudiera vislumbrar la posibilidad de obtener en relativo corto tiempo una vacuna más eficaz que BCG contra la TB.

En la presente revisión abordamos los temas relacionados con las características de cada etapa de la infección por *M. tuberculosis*, las características de la respuesta inmune y mostramos cómo un mejor entendimiento de la respuesta inmune protectora contra el bacilo tuberculoso unido a los avances en la biología molecular y otras ciencias, han contribuido a la obtención de nuevos candidatos vacunales desde una perspectiva más racional.

Transmisión y multiplicación de *M. tuberculosis*

La TB se considera una enfermedad de transmisión interhumana. El bacilo tuberculoso se transmite por la liberación de secreciones a través de la tos, el estornudo o el habla de una persona infectada hacia otra en contacto estrecho. La inhalación de estas secreciones en forma de gotas de Flugge, constituyen un elevado riesgo para que se produzca la infección; las mismas permanecen en el aire durante un período de tiempo, actuando como reservorios del microorganismo. La principal puerta de entrada de estas partículas es el tracto respiratorio y debido a su pequeño

tamaño llegan a alcanzar la parte inferior del mismo. Para que tenga lugar el asentamiento y desarrollo de la TB pulmonar el microorganismo pasa por varias etapas sucesivas y el paso por cada una de ellas puede conllevar a: la curación espontánea, la TB activa, la infección latente y la reactivación o reinfección.

La primera etapa comienza con la inhalación del bacilo: los macrófagos alveolares ingieren el bacilo y frecuentemente lo destruyen. En esta etapa la destrucción de la micobacteria depende de la actividad microbicida de los fagocitos del hospedero y los factores de virulencia de la micobacteria ingerida.

La segunda etapa, la micobacteria que escapa de la destrucción intracelular inicial se multiplicará dando lugar a la ruptura del macrófago. Cuando esto sucede los monocitos de la sangre y otras células inflamatorias son atraídas al pulmón; estos monocitos se diferenciarán en macrófagos y nuevamente ingieren la micobacteria, pero no la destruyen. En esta etapa simbiótica la micobacteria crece logarítmicamente y se acumulan macrófagos provenientes de la sangre, pero prácticamente no ocurre daño tisular.

En la tercera etapa, dos a tres semanas después de la infección, se desarrolla la inmunidad mediada por linfocitos T, donde los linfocitos T específicos de antígenos arriban y proliferan en las lesiones tempranas o tubérculos y entonces activan a los macrófagos para matar las micobacterias intracelulares. Subsecuentemente a esta fase, el crecimiento logarítmico cesa.

La necrosis sólida caseosa en estas lesiones primarias inhibe el crecimiento extracelular de la micobacteria y como resultado la infección se convierte en estacionaria o latente. La enfermedad puede progresar y la diseminación hematogena puede tener lugar después de la infección primaria, así como meses o años después (tuberculosis posprimaria), cuando el sistema inmune se debilita. La licuefacción del centro caseoso provee de excelentes condiciones para el crecimiento extracelular. La formación de la cavidad da lugar a la ruptura de los bronquios cercanos, permitiendo al bacilo diseminarse a través del espacio aéreo a otras partes del pulmón y fuera del medio pulmonar.

El resultado final de la infección por *M. tuberculosis* depende del balance entre la muerte de la micobacteria y la extensión de la necrosis del tejido, la fibrosis y su regeneración.

Protección contra la tuberculosis

Respuesta inmune innata

Estudios genéticos e inmunológicos han corroborado la relevancia de la inmunidad innata en la defensa del hospedero contra la tuberculosis.

La captura del bacilo tuberculoso por los macrófagos alveolares constituye la primera línea de defensa del sistema inmune innato del hospedero contra la TB.

Esta interacción inicial se produce por receptores celulares, tales como receptores del complemento, receptores de manosa, receptores de surfactantes y receptores scavenger. Más recientemente, la atención se ha concentrado hacia los receptores *toll-like* (*TLR*) en cuanto a que ellos son los que median la captura de las micobacterias por parte de los macrófagos. Específicamente, varios estudios han demostrado el rol de los *TLR2* y *TLR4* en la captura de las micobacterias, así como en promover respuestas antimicobacterianas.

Estudios in vivo en los que se han empleado ratones deficientes de *TLR2* y *TLR4* han mostrado que estos ratones eran más susceptibles a la infección micobacteriana que los ratones tipo salvajes. Además, estudios in vitro, donde se han empleado líneas celulares de macrófagos humanos han demostrado que la activación de *TLR* por lipoproteínas de la pared celular de *M. tuberculosis* inducía la producción de IL-12, una importante citocina proinflamatoria que participa en la respuesta del hospedero contra la TB. Estos estudios también demostraron que la producción de IL-12 mediada por los *TLR* daba lugar al incremento de la síntesis del óxido nítrico y del óxido nítrico, importantes factores bactericidas.

De esta manera podemos resumir que los *TLR* son componentes importantes de la inmunidad innata, los cuales permiten la detección de patrones moleculares asociados a micobacterias y además media la producción de moléculas efectoras antimicobacterianas.

Estos receptores, también tienen influencia sobre el sistema inmune específico a través de la inducción de moléculas inmunomoduladoras que contribuyen al desarrollo de respuestas proinflamatorias (10). Entre los efectos sobre el sistema inmune adaptativo tenemos el reclutamiento de los linfocitos T al sitio de lesión, activación de células dendríticas y producción de citocinas y quimiocinas.

Varias evidencias sustentan la participación de esta rama de la inmunidad en la protección contra la TB. Un ejemplo de ello fueron los estudios fundamentales de Lurie (11) con conejos susceptibles y resistentes, donde se observó que siete días después de la infección primaria a través de la inhalación del bacilo, los conejos susceptibles contenían en sus pulmones de 20 a 30 veces más micobacterias viables que los conejos resistentes. Obviamente, estas diferencias durante etapas tempranas de la infección no pueden ser atribuidas a la inmunidad mediada por células T.

Más recientemente fue encontrado que la inmunidad de células T en ratones vacunados protege efectivamente contra la TB diseminada, pero no previene la infección pulmonar inicial.

Entre los tipos más importantes de células que intervienen en la inmunidad innata tenemos: los macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, linfocitos B, células epiteliales y células alveolares tipo I y tipo II.

Respuesta inmune adquirida contra *M. tuberculosis*

Una vez que las partículas que contienen los bacilos de la TB llegan al espacio alveolar, son fagocitados tanto por las células dendríticas, como por los macrófagos. Se ha descrito que los macrófagos permanecen en el sitio de infección, mientras las células dendríticas migran hacia los linfonodos regionales, donde se encargan de activar a la población de linfocitos T. En la gran generalidad de los casos esta respuesta es suficiente para controlar la infección en un individuo inmunocompetente. Sin embargo, con esta respuesta no se eliminan totalmente los bacilos presentes en el hospedero, por lo que pudiera ocurrir la reactivación de la enfermedad si llegara a ocurrir una inmunodepresión del individuo.

Células T CD4+

La respuesta celular en la TB se inicia cuando los linfocitos T CD4+ (TcR $\alpha\beta$) reconocen los antígenos proteicos de *M. tuberculosis* presentados por los macrófagos o células dendríticas en el contexto MHC-II. Estos antígenos provienen del fagosoma y en este microambiente resultan de fácil acceso para ser acoplados y presentados mediante las moléculas MHC-II a los linfocitos T CD4+.

De esta manera los linfocitos T CD4 + son activados y consecuentemente producen IFN- γ que a su vez activan los macrófagos que inducen los mecanismos microbicidas que eliminan la bacteria. Simultáneamente los macrófagos secretan IL1 e IL2 que promueven la expansión clonal y activación de los linfocitos T CD4+ lo que resulta en una mayor producción de IFN- γ . Aunque la principal función de este tipo de células es la producción de citocinas como IFN- γ , las cuales activan los macrófagos y promueven los mecanismos de destrucción del bacilo, también contribuyen a generar una respuesta mediada por linfocitos T CD8+ (12-13). Además, se ha descubierto que los linfocitos T CD4+ participan en la inducción de la apoptosis de células infectadas y la subsecuente reducción de la viabilidad bacteriana, a través del sistema ligando CD95 Fas (14).

A esta subpoblación celular se le ha considerado como la de mayor importancia en la inmunidad protectora contra *M. tuberculosis* al comprobarse que en ausencia de estos linfocitos se produce el crecimiento incontrolable del bacilo (15). Tal es el caso de los pacientes que presentan una inmunodeficiencia como, por ejemplo, la causada por la infección por HIV.

Es importante resaltar que estos linfocitos pueden desarrollar al menos dos tipos de fenotipos diferentes, los cuales se

diferencian en la expresión del perfil de citocinas tras la estimulación antigénica y por tanto consecuentemente influyen de manera distinta en la protección o la progresión de la enfermedad.

Las células Th1 son inducidas por IL-12 y producen IFN- γ , IL-2 y TNF- α , las cuales se encargan de activar la actividad microbicida intracelular en macrófagos y otras células e iniciar y probablemente mantener la respuesta inflamatoria granulomatosa. Las células Th2 se inducen mediante la IL-4 y producen grandes cantidades de esta citocina y de otras, entre las que se incluyen, IL-5, IL-10, e IL-13, que son importantes para la respuesta inmune mediada por anticuerpos. Se ha comprobado que en ratones la inducción de células CD4+ Th1 es protectora, mientras la inducción de células Th2 incrementa la susceptibilidad a los retos con *M. tuberculosis* (16). La respuesta Th1 también es importante en la inmunidad antimicobacteriana en humanos. De hecho, individuos con polimorfismo natural en genes que codifican para moléculas receptoras de IFN- γ que producen una deficiente señalización para esta citocina, son más susceptibles a infecciones micobacterianas diseminadas (17).

Células T CD8+

Las células T CD8+ reconocen y destruyen células blanco infectadas con patógenos intracelulares. Los péptidos antigénicos son presentados a estas células a través de las moléculas MHC-I. Dichos péptidos son generados en el citoplasma de la célula y luego transportados al retículo endoplasmático, donde se unen a las moléculas MHC-I maduras antes de ser transportadas a la superficie celular.

Por tanto, patógenos intracelulares que escapan de su compartimiento fagosomal inicial y se replican libremente en el citoplasma son potentes estimuladores de respuestas de células T CD8+. Sin embargo, *M. tuberculosis* previene la fusión fagosoma-lisosoma, prefiriendo replicarse en los compartimentos fagosomales o endosomales iniciales que infectó. Estos compartimentos intracelulares favorecen más bien la presentación de antígenos peptídicos acoplados con MHC-II a las células T CD4+, lo que hace pensar que esta subpoblación es la más importante en la inmunidad protectora contra la TB. No obstante, datos experimentales sugieren que los linfocitos T CD8+ son elementos importantes en la inmunidad protectora contra las micobacterias (18).

Experimentos en ratones knockout para genes de las moléculas CD8 y MHC-I demuestran una incrementada susceptibilidad a retos bacterianos virulentos, evidenciando el papel que desempeñan estas células en la inmunidad antimicobacteriana (19). También en modelos de latencia de la TB en ratones se demostró que esta población es particularmente importante en la prevención de la reactivación de la enfermedad (20).

El mecanismo de muerte celular ha resultado un tanto controversial: por un lado, se considera que luego de la lisis de las células infectadas y la liberación de las micobacterias, estas son captadas por macrófagos activados no infectados que serían los responsables de matarlas. Sin embargo, también se ha comprobado que los linfocitos T CD8+ participan directamente en la muerte de la micobacteria a través de una proteína asociada a gránulos denominada granulolisina (21), que actúa conjuntamente con la perforina. Estos gránulos citolíticos ejercen su efecto microbicida de manera directa tanto sobre micobacterias extracelulares como intracelulares (21).

Según diferentes hallazgos, se ha comprobado en pulmones de ratones infectados que los linfocitos CD8+ se encargan de la secreción de IFN- γ a través de la activación del receptor de células T, o por interacción con células dendríticas infectadas (22).

Células T $\gamma\delta$

Esta subpoblación de células T que constituyen menos del 5% de la población periférica circulante, expresa receptores de células T compuestos por dímeros de las cadenas proteicas γ y δ . Estas células se expanden rápidamente y producen grandes cantidades de citocinas ante una estimulación antigénica. Ellas tienden a acumularse en superficies epiteliales y pueden ser una línea de defensa temprana contra la invasión inicial de patógenos ambientales. En humanos y macacos, pero no en ratones, tanto la infección por *M. tuberculosis* como la vacunación con BCG inducen la expansión de células T $\gamma\delta$, que provoca una protección parcial contra la progresión de la TB (23).

Células T $\gamma\delta$ específicas de micobacterias pueden desarrollar funciones efectoras de memoria, incluyendo la secreción de un perfil de citocinas tipo 1 similar a las de las células CD4+ Th1, así como pueden mediar una actividad citolítica contra células blanco infectadas con *M. tuberculosis* (24).

Estas células pueden ser estimuladas por antígenos no peptídicos fosforilados, ampliando el repertorio de blancos que presenta el patógeno, capaz de estimular una respuesta inmune protectora en el hospedero (25-26).

Células T $\alpha\beta$ restringidas por CD1

Las células T $\alpha\beta$ restringidas por CD1 resultan ser otra subpoblación de células T, las cuales expresan como receptores dímeros de proteína α y β y son estimuladas por antígenos no peptídicos, específicamente por antígenos de naturaleza lipídica, como pudieran ser los lípidos presentes en la pared celular de las micobacterias. El reconocimiento de tales antígenos lo hacen en el contexto de las moléculas CD1 no polimórficas, estimulando respuestas de citocinas específicas y actividad citolítica (27). Estas células T $\alpha\beta$ restringidas por moléculas CD1 también producen

granulisina (21). Se ha comprobado que la inmunización de curieles con lípidos de micobacterias induce incrementos de la respuesta de células T $\alpha\beta$ restringidos por CD1, lo que sugiere una respuesta de memoria antígeno específica (28). También se ha demostrado que la inmunización de curieles con estos lípidos produce una protección modesta ante retos con *M. tuberculosis* (29), aunque no se ha probado si esta protección se debe a la acción de células T restringidas por CD1.

Mecanismos propuestos para la presentación de antígenos por las células presentadoras de antígenos a las diferentes poblaciones de linfocitos T

El mecanismo de presentación de antígenos mediante el cual los péptidos provenientes de proteínas de *M. tuberculosis* se acoplan a moléculas del tipo MHC-II está muy bien establecido. En este caso el mecanismo propuesto es que una vez fagocitadas las micobacterias por las células presentadoras de antígenos, el procesamiento y asociación de los mismos con las moléculas MHC-II tiene lugar en el fagosoma. Este complejo pasa posteriormente a la superficie, ocurriendo la presentación de los péptidos a las células T CD4+.

Sin embargo, los mecanismos involucrados en la presentación de antígenos en el contexto de las moléculas MHC-I aún están en estudio, no obstante se han propuesto dos mecanismos fundamentales. Según evidencias experimentales se ha llegado a considerar que la membrana fagosomal está equipada por toda la maquinaria de procesamiento y presentación en el contexto de MHC-I. A este mecanismo se le ha denominado presentación cruzada derivado del inglés cross-presentation y se propone que la molécula MHC-I puede asociarse con antígenos provenientes del propio fagosoma.

El segundo mecanismo parte de la evidencia de que *M. tuberculosis* es capaz de provocar apoptosis a las células fagocíticas. En consecuencia las vesículas apoptóticas con la carga antigénica son captadas por células dendríticas vecinas, dirigiendo la carga antigénica hacia la maquinaria de presentación de MHC-I (30). A este mecanismo se le ha denominado sensibilización cruzada, del inglés cross-priming.

Recientes hallazgos han llevado a considerar este mecanismo como la forma principal de presentación de péptidos asociados a las moléculas MHC-I. Ellos fundamentan esta hipótesis basándose en el hecho de que mientras *M. tuberculosis* es capaz de estimular una respuesta mediada por linfocitos T CD8+, BCG es incapaz de desarrollar la misma y esto se debe a que no induce la apoptosis.

Se cree que este último mecanismo tiene lugar también para el caso de la presentación de antígenos restringidos por CD1

(30), pues se ha encontrado que los antígenos de las vesículas apoptóticas pueden ser también de naturaleza glicolípida. Si bien este mecanismo responde a la forma de presentación para linfocitos T CD8+ y linfocitos T restringidos por CD1, se ha considerado que pudiera auxiliar y mejorar la presentación de antígenos por la vía MHC-II.

Los macrófagos, sitio de infección del bacilo tuberculoso, son débiles inductores del procesamiento y presentación de antígenos a linfocitos T CD4+ comparado con las células dendríticas. Al mismo tiempo, *M. tuberculosis* debilita estos mecanismos en el macrófago, provocando una pobre expresión de las moléculas MHC-II, lo que constituye uno de los mecanismos de evasión desarrollado por este microorganismo. Por tanto, la translocación de antígenos a través de vesículas apoptóticas hacia células dendríticas vecinas o espectadoras contribuiría al mejoramiento de la presentación de antígenos por la vía MHC-II y por consiguiente a la estimulación de los linfocitos T CD4+.

Volviendo a las células T restringidas por CD1 y sobre todo al mecanismo que opera en dicha presentación antigénica, el grupo de Kaufmann y col. (31) ha propuesto un mecanismo mediante el cual las moléculas glicolípicas se asocian a las moléculas CD1 una vez que ingresan en los macrófagos.

El estudio de este mecanismo se realizó con las moléculas CD1 del grupo 1, las cuales están ausentes en roedores (ratones y ratas), pero están presentes en humanos. Se plantea que aunque la micobacteria libera lípidos que se unen a CD1, este no es el principal mecanismo, pues lo que ocurre con mayor frecuencia es la integración de estos lípidos a la membrana fagosomal. Por lo que sería casi imposible que ocurriera la unión directa de los lípidos con las moléculas CD1.

A partir de los hallazgos de este grupo se ha podido confirmar que en este proceso participan unas moléculas denominadas saposinas, las cuales extirpan la molécula glicolípida de la membrana fagosomal y son las encargadas de guiar los antígenos lipídicos hacia las moléculas CD1. Similares estudios fueron realizados para las moléculas CD1 del grupo 2 que permiten confirmar este mecanismo.

Respuesta mediada por anticuerpos

Tradicionalmente, existe el dogma que sólo la inmunidad mediada por células está implicada en la inmunidad protectora contra la TB. Este pensamiento se debe fundamentalmente a que *M. tuberculosis* se replica predominantemente dentro del fagosoma del macrófago y los patógenos intracelulares son en general reconocidos por mecanismos de la inmunidad celular y no la humoral. No obstante, se ha encontrado que la vacunación con BCG, así como la infección por *M. tuberculosis* inducen respuesta de anticuerpos (32), sin embargo, durante mucho tiempo se ha pensado que este tipo de respuesta es irrelevante en el

control de la replicación de la micobacteria. No obstante, evidencias actuales sugieren que los anticuerpos pudieran proveer mecanismos de protección en diferentes etapas de la infección por *M. tuberculosis* (33).

Los mecanismos mediante los cuales los anticuerpos median la protección frente a la infección por TB, son fundamentalmente tres. El primero, es que la opsonización de las micobacterias mejora los procesos de fagocitosis por los neutrófilos, siendo más efectivos los mecanismos de muerte intracelular de *M. tuberculosis*. Segundo, la captura por parte de los macrófagos, a través de receptores de inmunoglobulinas pudiera incrementar la muerte intracelular por el hospedero. Y tercero, la captura o activación celular inducida por las inmunoglobulinas en las células presentadoras de antígenos pudiera incrementar la respuesta de las células T específicas de micobacterias. Se ha demostrado que anticuerpos humanos específicos de micobacterias inducidos por la vacunación con BCG son capaces de mediar respuestas protectoras a través de estos tres mecanismos (34).

El estudio del papel que desempeñan los anticuerpos en la inmunidad antituberculosa constituye una línea de investigación con renovada expansión. En estos temas están trabajando varios grupos, siendo el grupo de Armando Acosta y colaboradores uno de los pioneros en esta vertiente, con el objetivo de diseñar nuevas vacunas contra la TB capaces de inducir una respuesta humoral con actividad protectora (35).

Varios trabajos, los cuales han seguido esta línea de pensamiento, han demostrado la capacidad protectora que pueden ejercer los anticuerpos en la inmunidad antimicobacteriana. Por ejemplo, se ha comprobado que la inoculación pasiva en modelos animales de anticuerpos, tanto monoclonales como policlonales y de tipo IgA e IgG son capaces de reducir el número de unidades formadoras de colonias (UFC) en órganos claves como bazo y pulmón después del reto con *M. tuberculosis* (36).

Experimentos similares en modelos animales demostraron que no sólo los anticuerpos eran capaces de reducir el número de células infectantes sino que también incrementaban la sobrevivencia de los animales ante dosis letales de *M. tuberculosis* (37).

Inmunidad mucosal

Se sabe que *M. tuberculosis* es transmitido por vía aérea, siendo localizada en su mayor parte en los pulmones de pacientes infectados. Los pulmones son órganos mucosales con especialización regional de la respuesta inmune. Por tanto, un objetivo importante en materia de desarrollo de vacunas contra la TB es optimizar la inmunidad mucosal en pulmón, adicionalmente a la inducción de inmunidad sistémica contra la replicación diseminada incontrolada.

Varios estudios en ratones han demostrado las ventajas de la inmunidad mucosal en la protección contra infecciones micobacterianas (38-39).

Diseño de nuevas vacunas contra la tuberculosis

Es de consenso general por parte de la comunidad científica, la urgente necesidad de una nueva vacuna que controle satisfactoriamente la TB.

Los avances en el conocimiento de los mecanismos inmunitarios involucrados en la protección contra *M. tuberculosis* han permitido implementar novedosas estrategias en la búsqueda de vacunas contra la TB, entre las que se distinguen fundamentalmente dos: la primera considera la inclusión de unos pocos péptidos antigénicos seleccionados e identificados, tanto por células T CD4+ como por células T CD8+. Este es el basamento de las llamadas vacunas de subunidades, que son incluidos uno o varios antígenos. Las vacunas de subunidades han sido seleccionadas a través de abordajes racionales y experimentales. Por ejemplo, han sido identificados antígenos claves de *M. tuberculosis* mediante análisis de la respuesta inmune en individuos sanos y su obtención de donadores positivos.

Entre los antígenos seleccionados tenemos: Mtb72F, una poliproteína de 72kDa (Mtb32(C)-Mtb39-Mtb32(N)). La inmunización de ratones con Mtb72F, formulada con el adyuvante ASO1B, generó una potente respuesta inmune, induciendo altos niveles de IFN- γ y de anticuerpos contra los tres componentes de la poliproteína, además de una potente respuesta CD8+ contra el epitope Mtb32(C).

La inmunización con Mtb72F protegió ratones de la línea C57BL/6 ante el reto mediante aerosol con una cepa virulenta de *M. tuberculosis*. Más importante resulta el hecho de que la inmunización en curieles con esta poliproteína dio lugar a una prolongada sobrevivencia después del reto con *M. tuberculosis* virulento, comparable a la inmunización con BCG, por tal motivo constituye el primer candidato vacunal recombinante contra la TB (40).

Generalmente este tipo de vacunas están constituidas por proteínas recombinantes purificadas a partir de un vector de expresión bacteriano. Para el caso de antígenos de *M. tuberculosis* se han explorado gran número de vectores con el propósito de obtener altos rendimientos de estos antígenos de naturaleza proteica y que los mismos sean semejantes a los antígenos provenientes de *M. tuberculosis*, sobre todo se han empleado aquellos cuyas proteínas sufren las mismas modificaciones químicas que las micobacterias.

Entre los vectores que se han utilizado en la expresión de antígenos de *M. tuberculosis* encontramos: baculovirus (41), *Streptomyces lividans*, *Corynebacterium spp.*, *M. smegmatis* (42-44) y *Pichia Pastori* (45).

Se ha comprobado que modificaciones tales como la glicosilación de las proteínas, repercuten en la inmunogenicidad inducida por tales antígenos (46). *Streptomyces lividans* es un hospedero filogenéticamente cercano a las micobacterias, es por eso que se ha estudiado su uso como vector para la expresión de antígenos de *M. tuberculosis*. En Cuba el grupo de Carlos Vallín y colaboradores ha demostrado la eficacia de este hospedero para producir antígenos de *M. tuberculosis* (47).

Otro hospedero utilizado para expresar antígenos de *M. tuberculosis* ha sido *Saccharomyces cerevisiae*, específicamente en la expresión de bandas multiepitópicas sintéticas pertenecientes a diferentes antígenos de *M. tuberculosis* (48).

Entre las ventajas en la utilización de este tipo de vector para la expresión de antígenos de *M. tuberculosis*, tenemos la simplicidad en la manipulación y trabajo con el mismo, que al igual que algunos sistemas bacterianos como *E. coli* no necesita de altos requerimientos nutricionales, se caracteriza por una alta velocidad de crecimiento y alta frecuencia de transformación. Además, aventaja a muchos vectores bacterianos, por el hecho de que en este hospedero tienen lugar eventos postraduccionales que provocan modificaciones químicas en las proteínas muy semejantes a los de micobacteria, no produce cuerpos de inclusión y los niveles de endotoxina que produce son casi indetectables (49).

Todos estos factores pudieran permitir en un futuro la posible utilización de *Saccharomyces cerevisiae* como vector no-patogénico para una vacuna que sea administrada oralmente contra la tuberculosis.

Dentro del grupo de vacunas de subunidades también encontramos las vacunas basadas en ADN desnudo o vacunas génicas. Las ventajas que ofrece este tipo de vacunas es que es posible la expresión endógena de los antígenos en células presentadoras, lo que permite su procesamiento apropiado para la estimulación de linfocitos CD4+ y linfocitos CD8+. Adicionalmente, los plásmidos utilizados como vectores de vacunas contienen secuencias inmunoestimuladoras, tales como los motivos no metilados C_pG.

En esta estrategia, generalmente, se realiza el clonaje de un gen que codifica para un antígeno inmunodominante en un vector eucariota, no obstante también se han empleado librerías genómicas completas que supone contengan un repertorio más representativo de todos los antígenos codificados en el genoma del microorganismo, tal es la experiencia realizada con *M. tuberculosis* por el grupo de Acosta y colaboradores (50). En este trabajo se demostró que la inoculación de una librería de expresión genómica de *M. tuberculosis* en ratones Balb/c confería protección en un modelo de infección experimental con BCG.

La segunda estrategia asume que estén presentes la mayor cantidad de antígenos posibles, con el objetivo de activar un repertorio mayor de poblaciones de linfocitos, comprendiendo no sólo a los linfocitos convencionales CD4+ y CD8+, sino también los no convencionales. Esta estrategia es la base para el desarrollo de vacunas vivas atenuadas.

Ambas estrategias, a pesar de su división, no son mutuamente excluyentes, pues se ha propuesto la posibilidad de seleccionar los mejores candidatos de ambos abordajes para el desarrollo de regímenes de sensibilización-recuerdo (prime-boost) heterólogos, lo cual pudiera constituir la mejor opción para desencadenar una respuesta inmune potente representada por todos los componentes del sistema inmune. En este escenario, la sensibilización por preexposición con una vacuna atenuada altamente eficaz, debe ir seguida de la postexposición de recuerdo de una potente vacuna de subunidades.

Es obvio que la composición antigénica de la vacuna de subunidades es dependiente del tiempo en que ocurre la administración. Es decir, vacunas de subunidades preadministradas deben comprender antígenos de *M. tuberculosis* que se expresen inmediatamente después de la infección, sin embargo, vacunas de subunidades postexposición deben contener antígenos que se expresen en *M. tuberculosis* latente, o sea en etapas tardías de la infección.

El desarrollo de las técnicas del BCG recombinante ha permitido obtener candidatos vacunales que han resultado ser más efectivos que BCG parental en modelos animales. Para ello se han desarrollado varias estrategias: una de ellas es basada en BCGr, para producir grandes cantidades de antígenos autólogos protectores, así como antígenos provenientes de *M. tuberculosis*, como BCGr que expresa y secreta el antígeno de 30 kDa, la principal proteína secretada por *M. tuberculosis*. La inmunización con esta cepa que expresa y secreta el antígeno de 30kDa ha resultado en un mayor tiempo de sobrevivencia que BCG parental, después del reto en el modelo de TB experimental en curieles (51).

Por otra parte, se trabaja en restablecer los genes de BCG que se han perdido por delección a partir de la cepa *M. bovis* y que son importantes antígenos. Un ejemplo es el caso de ESAT-6 delecionado de la región RD1 de BCG.

Partiendo del conocimiento de la importancia de los linfocitos CD8+ en la inmunidad protectora contra la TB, SH Kaufmann desarrolla otra estrategia de vacuna; observa que el BCG por sí solo no era capaz de estimular este tipo de respuesta (52), por lo que tomaron en cuenta lo que ocurre con otro patógeno intracelular, *Listeria monocitogenes*, el cual al ser fagocitado por los macrófagos egresa del fagosoma hacia el citosol. En este mecanismo de translocación es esencial una enzima denominada listeriolisina (hly). Por ello el gen que codifica para esta enzima fue insertado en el genoma de BCG,

de modo que facilitara la entrada de antígenos al citosol, propiciando entonces la unión de los péptidos antigénicos a las moléculas MHC-I y así estimular los linfocitos CD8+ (53). Estudios de reto mediante aerosol de una cepa virulenta de *M. tuberculosis* demostró que la respuesta protectora inducida por la cepa de BCG recombinante con el gen de la listeriolisina (rBCG-hly) era superior a la inducida por la cepa de BCG salvaje.

En otras investigaciones se insertó el gen de la listeriolisina en una cepa mutante de BCG deficiente de ureasa (DUre rBCG-hly). Esto se debe a que BCG salvaje provoca la neutralización del fagosoma y el pH óptimo para la actividad de la listeriolisina es ácido (pH=5.5). La cepa mutante no neutraliza el medio dentro del fagosoma permitiendo la acidificación del mismo y un pH óptimo para la enzima. Los estudios de reto mediante la inoculación aerógena de una cepa de laboratorio y de una proveniente de un aislamiento clínico (Beijing/W) de *M. tuberculosis* demostró que los niveles de protección con la cepa mutante eran más altos que los alcanzados por la cepa de BCG salvaje (54).

Aunque la eficacia de estos candidatos vacunales pudiera depender de la virulencia del microorganismo, estudios realizados en ratones con inmunodeficiencia combinada severa (SCID), infectados con las cepas rBCG-hly y DUre rBCG-hly, demostraron lo contrario, con tiempos de supervivencia de los ratones superiores a la mostrada cuando se inoculó el BCG salvaje. Este resultado fue realmente gratificante para el grupo, permitiendo introducir la cepa DUre rBCG-hly en ensayos clínicos. También se han obtenido BCG capaces de secretar diversas citocinas, incluyendo IL-2, IFN- γ y otras, en un intento por mejorar las propiedades inmunoestimuladoras de BCG (55).

Por último, mutantes atenuados de *M. tuberculosis* diseñados racionalmente se han considerado potenciales candidatos vacunales. El desarrollo de diversas herramientas biológicas ha facilitado la manipulación genética de *M. tuberculosis* (56). Estos avances y la culminación de la secuenciación de su genoma (57), han facilitado el análisis de la contribución de genes individuales a la virulencia de *M. tuberculosis*.

La posible ventaja de utilizar cepas atenuadas de *M. tuberculosis* como vacuna se debe a que gran parte de los genes que se han perdido en la cepa vacunal BCG, como consecuencia de la adaptación progresiva de la misma a las condiciones de laboratorio, aún están presentes en *M. tuberculosis*, los cuales pudieran contribuir a una respuesta inmune más potente que el propio BCG. En la actualidad varios grupos han seguido esta estrategia y como ejemplo tenemos el mutante de *M. tuberculosis* phoP.

Esta cepa atenuada de *M. tuberculosis* se obtuvo mediante la inactivación de un solo gen y ha mostrado su pobre multiplicación in vitro en cultivos de macrófagos de ratón y es también atenuada in vivo en el modelo de infección de

ratón. Así que el mutante phoP pudiera estar involucrado en la regulación de la virulencia de *M. tuberculosis* y es prometedor como vacuna contra la tuberculosis (58). Diferentes mutantes auxotróficos de *M. tuberculosis* se han obtenido, los cuales pueden ser atenuados en diferentes grados, y como consecuencia exhiben diverso potencial como vacuna al ser ensayados en modelos animales. Más recientemente se describe la obtención de mutantes dobles auxotróficos con la finalidad de que sea poco probable la posible reversión de la virulencia.

Podemos concluir que las investigaciones en el campo de las vacunas contra la TB se encuentran en una etapa decisiva y se cuenta con cientos de candidatos vacunales probados en modelos experimentales, de los cuales gran parte están en fase de ensayos clínicos.

Referencias

1. Crispin R. History of BCG and its substrains. *Prog Clin Biol Res* 1989;310:35-50.
2. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V and Ravignione MC. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. *JAMA* 1999;282:677-86.
3. WHO/IUATLD. Anti-Tuberculosis Drug Resistance in the World. Report No. 3: Geneva: World Health Organization and International Union Against Tuberculosis and Lung Disease; 2004.
4. WHO. Global Report Tuberculosis. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. Geneva: World Health Organization; 2005.
5. WHO. Statement on BCG revaccination for the prevention of tuberculosis. Geneva: World Health Organization;1995.
6. Orme IM. Beyond BCG: the potencial for a more effective TB vaccine. *Mol. Med. Today* 1999;5: 487-92.
7. Sepulveda RL, Parcha C, Sorensen RU. Case-control study of the efficacy of BCG immunization against pulmonary tuberculosis in young adults in Santiago. *Chile Tuberc Lung Dis* 1992; 73:327-72.
8. World Health Organization. The Stop TB Department. WHO Report 2006: GlobalTuberculosisControl surveillance, planning, financing. [http://www.who.int/tb/publications/global_report/2006/download_centre/en/index.html]. 2005.
9. Collins HL, Kaufmann SHE. Chapter 15: Acquired Immunity against Bacteria. In: Kaufmann SHE, Sher A, Ahmed R, editors. *Immunology of Infectious Diseases*, Washington DC: ASM Press; 2002. p. 207-21.
10. Schluger NM. Recent advances in our understanding of human host response to tuberculosis. *Respir Res* 2001; 2:157- 63.
11. Lurie, M. B., Abramson S., and Heppleston AG. On the response of genetically resistant and susceptible rabbits to the quantitative inhalation of human-type tubercle bacilli and the nature of resistance to tuberculosis. *J. Exp. Med.* 1952; 95:119-134
12. Scanga CA, Mohan VP, Yu K, Joseph H, Tanaka K, Chan J, et al. Depletion of CD4 (+) T cells causes reactivation of murine persistent tuberculosis despite continued expression of interferon gamma and nitric oxide synthase 2. *J Exp Med* 2000; 192:347-58.

13. Serbina NV, Lazarevic V, Flynn JL. CD4(+) T cells are required for the development of cytotoxic CD8(+) T cells during *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol* 2001; 167: 6991-7000.
14. Oddo M, Renno T, Attinger A, Bakker T, MacDonald HR, Meylan PR. Fas ligand induced apoptosis of infected human macrophages reduces the viability of intracellular *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol* 1998; 160:5448-54.
15. Caruso AM, Serbina N, Klein E, Triebold K, Bloom BR, Flynn JL. Mice deficient in CD4 T cells have only transiently diminished levels of IFN-gamma, yet succumb to tuberculosis. *J Immunol* 1999;162:5407-16
16. Wangoo A, Sparer T, Brown IN, Snewin VA, Janssen R, Thole J, et al. Contribution of Th1 and Th2 cells to protection and pathology in experimental models of granulomatous lung disease. *J Immunol* 2001;166:3432-39.
17. Newport MJ, Huxley CM, Huston S, Hawrylowicz CM, Oostra BA, Williamson R, et al. A mutation in the IFN-gamma receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *N Engl J Med* 1996; 335:1941-49.
18. Flynn JL, Goldstein MM, Triebold KJ, Koller B, Bloom BR. Major histocompatibility complex class I-restricted T cells are required for resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:12013-17.
19. Ladel CH, Daugelet S, Kaufmann SH. Immune response to *Mycobacterium bovis* bacille Calmette Guerin infection in major histocompatibility complex class I- and II-deficient knock-out mice: contribution of CD4 and CD8 T cells to acquired resistance. *Eur J Immunol* 1995;25:377-84.
20. van Pinxteren LA, Cassidy JP, Smedegaard BH, Agger EM, Andersen P. Control of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection is dependent on CD8+ T cells. *Eur J Immunol* 2000;30: 3689-98.
21. Stenger S, Hanson DA, Teitelbaum R, Dewan P, Niazi KR, Froelich CJ, et al. An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science* 1998; 282:121-5.
22. Serbina NV, Flynn JL. Early emergence of CD8(+) T cells primed for production of type 1 cytokines in the lungs of *Mycobacterium tuberculosis*-infected mice. *Infect Immun* 1999;67:3980-8.
23. Havlir DV, Ellner JJ, Chervenak KA, Boom WH. Selective expansion of human CD4 T cells by monocytes infected with live *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Invest* 1991;87:729-33.
24. Lang F, Peyrat MA, Constant P, Davodeau F, David-Ameline J, Poquet Y, et al. Early activation of human V α 9V β 2 T cell broad cytotoxicity and TNF production by nonpeptidic mycobacterial ligands. *J Immunol* 1995;154:5986-94.
25. Schoel B, Sprenger S, Kaufmann SHE. Phosphate is essential for stimulation of V α 9/V β 2 T lymphocytes by mycobacterial low molecular weight ligand. *Eur J Immunol* 1994;24:1886-92.
26. Constant P, Davodeau F, Peyrat MA, Poquet Y, Puzo G, Bonneville M, et al. Stimulation of human CD4 T cells by nonpeptidic mycobacterial ligands. *Science* 1994; 264: 267-70.
27. Porcelli S, Morita CT, Brenner MB. CD1b restricts the response of human CD4-8- T lymphocytes to a microbial antigen. *Nature* 1992; 360: 593-97.
28. Hiromatsu K, Dascher CC, LeClair KP, Sugita M, Furlong ST, Brenner MB, et al. Induction of CD1-restricted immune responses in guinea pigs by immunization with mycobacterial lipid antigens. *J Immunol* 2002;169:330-39.
29. Dascher CC, Hiromatsu K, Xiong X, Morehouse C, Watts G, Liu G et al. Immunization with a mycobacterial lipid vaccine improves pulmonary pathology in the guinea pig model of tuberculosis. *Int Immunol* 2003;15:915-25.
30. Schaible UE, Winau F, Sieling PA, Fischer K, Collins HL, Hagens K, Modlin RL, et al. Apoptosis facilitates antigen presentation to T lymphocytes through MHC-I and CD1 in tuberculosis. *Nature Medicine* 2003;9:1039-46.
31. Winau F, Schwierzeck V, Hurwitz R, Rimmel N, Sieling PA, Modlin RL, et al. Saposin C is required for lipid presentation by human CD1b. *Nature Immunology* 2004;5:169-174.
32. Brown RM, Cruz O, Brennan M, Gennaro ML, Schlesinger L, Sheiky YA, et al. Lipoarabinomannan-reactive human secretory immunoglobulin A responses induced by mucosal bacille Calmette-Guerin vaccination. *J Infect Dis* 2003; 187:513-17.
33. Hoft DF, Kemp EB, Marinaro M, Cruz O, Kiyono H, McGhee JR, et al. A double-blind, placebo-controlled study of *Mycobacterium*-specific human immune responses induced by intradermal bacille Calmette-Guerin vaccination. *J Lab Clin Med* 1999; 134:244-52.
34. de Valliere S, Abate G, Blazevic A, Heuertz RM, Hoft DF. Enhancement of innate and cell-mediated immunity by antimycobacterial antibodies. *Infect Immun* 2005; 73:6711-20.
35. Acosta A, Falero G, Cádiz A, Sierra G, Infante JF, Sarmiento ME, et al. Un nuevo enfoque en el estudio de los mecanismos de defensa contra la Tuberculosis. Papel de los anticuerpos específicos. *Biotecnología Aplicada* 2003;20 (2):130-3.
36. Williams A, Reljic R, Naylor I, Clark S, Falero-Díaz G, Singh M, et al. Passive protection with immunoglobulin A antibodies against tuberculous early infection of the lungs. *Immunology* 2004; 111 (3):328-33.
37. Teitelbaum R, Glatman-Fredman A, Chen B, Robbons JB, Unanue E, Casadevall A, et al. A mAb recognizing a surface antigen of *Mycobacterium tuberculosis* enhances host survival. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1998; 95:15688-93.
38. Goonetilake NP, McShane H, Hannan CM, Anderson RJ, Brookes RH, Hill AV. Enhanced immunogenicity and protective efficacy against *Mycobacterium tuberculosis* of bacilli Calmette-Guerin vaccine using mucosal administration and boosting with a recombinant modified vaccinia virus Ankara. *J Immunol* 2003;171:1602-09.
39. Chen L, Wang J, Zganiacz A, Xing Z. Single intranasal mucosal *Mycobacterium bovis* BCG vaccination confers improved protection compared to subcutaneous vaccination against pulmonary tuberculosis. *Infect Immun* 2004;72:238-46.
40. Skeiky YA, Alderson MR, Owendale PJ, Guderian JA, Brandt L, Dillon DC et al. Differential immune responses and protective efficacy induced by components of a tuberculosis polyprotein vaccine, Mtb72F, delivered as naked DNA or recombinant protein. *J Immunol* 2004; 172:7618-28.
41. Atkins D, al-Ghusein C, Prehaud C, and Coates AR. Overproduction and purification of *Mycobacterium tuberculosis* chaperonin 10. *Gene* 1994;150:145-8.
42. Harth G, Lee BY, and Horwitz MA. High-level heterologous expression and secretion in rapidly growing non-pathogenic mycobacteria of four major *Mycobacterium tuberculosis* extracellular proteins considered to be leading vaccine candidates and drug targets. *Infect.Immun* 1997;65:2321-8.

43. Menéndez MC, Domenech P, Prieto J, García MJ. Cloning and expression of the *M. fortuitum* superoxide dismutase gene. *FEMS Microbiol. Lett.* 1995;134: 273-8.
44. Zhang Y, Lathigra R, Garbe T, Catty D, Young D. Genetic analysis of superoxide dismutase, the 23 kilodalton antigen of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Microbiol.* 1991;5:381-91.
45. Benabdeselem C, Barbouche MR, Jarbouli MA, Dellagi K, Ho JL, Fathallah DM. High Level Expresión Recombinant *Mycobacterium tuberculosis* Culture Filtrate Protein CFP32 in *Pichia Pastori*. *Molecular Biotechnology* 2007;35(1):41-50.
46. Horn C, Namane A, Pescher P, Riviere M, Romain F, Puzo G, et al. Decreased Capacity of Recombinant 45/47-kDa Molecules (Apa) of *Mycobacterium tuberculosis* to stimulate T Lymphocyte Response Related to Changes in their Mannosylation Pattern. *J Biol Chem* 1999; 274:32023-30.
47. Vallín C, Ramos A, Pimienta E, Rodríguez C, Hernández I, Del Sola R, et al. *Streptomyces* as host for recombinant production of *Mycobacterium tuberculosis* proteins. *Tuberculosis* 2006; 86:198-202.
48. García-Santana MA, Sarmiento ME, Coria R, Kawasaki L, Ongay L, de la Rosa JF, Mohd Nor N. Expresión heteróloga de un péptido multiepitópico de células B de *M. tuberculosis* en *Saccharomyces cerevisiae*. *Vaccinmonitor* 2007; 16(2):21-5.
49. Rogan D, Babiuk LA. Novel vaccines from Biotechnology. *Rev. Ssci. Tech. Off. int. Epiz.* 2005; 24:159-74.
50. López-Hernández Y, Yero D, Infante JF, Sarmiento ME, Olivares N, Casado E, Díaz D, et al. Immunization of mice with a *Mycobacterium tuberculosis* genomic expression library results in lower bacterial load in lungs after challenge with BCG. *Tuberculosis* 2006;86:247-54.
51. Horwitz MA, Harth G. A new vaccine against tuberculosis affords greater survival after challenge than the current vaccine in the guinea pig model of pulmonary tuberculosis. *Infect Immun* 2003; 71:1672-9.
52. Kaufmann SH. Is the development of a new tuberculosis vaccine possible? *Nat Med* 2000; 6:955-60.
53. Hess J, Miko D, Catic A, Lehmsiek V, Russell DG, Kaufmann SH. *Mycobacterium bovis* Bacille Calmette- Guérin strains secreting listeriolysin of *Listeria monocytogenes*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95:5299-304.
54. Grode L, Seiler P, Baumann S, Hess J, Brinkmann V, Nasser Eddine A, Mann P et al. Increased vaccine efficacy against tuberculosis of recombinant *Mycobacterium bovis* bacille Calmette-Guérin mutants that secrete listeriolysin. *The Journal of Clinical Investigation* 2005;115:2472-9.
55. Ohara N, Yamada T. Recombinant BCG vaccines. *Vaccine* 2001; 19:4089-98.
56. Clark-Curtiss JE, Haydel SE. Molecular genetics of *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis. *Annu Rev Microbiol* 2003; 57: 517-49.
57. 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; 393:537-44.
58. Pérez E, Samper S, Bordas Y, Guilhot C, Gicquel B, Martín C. An essential role for *phoP* in *Mycobacterium tuberculosis* virulence. *Mol Microbiol* 2001;41:179-87.

The anti-tuberculosis immunity and their implications in the vaccine candidates development

Abstract

The incidence of tuberculosis has reached alarming rates nowadays. BCG vaccine, the only anti-tuberculosis vaccine available has been inefficient in several field trials around the world. It is currently imperative to obtain new vaccines against tuberculosis. A better understanding of the immune response induced by *M. tuberculosis* during infection could help to obtain the desired vaccine in a relative short time. The aim of the present review is to show a general panoramic of *M. tuberculosis* infection cycle, the main effectors cells in the anti-tuberculosis immunity and the fundamental strategies in the rational vaccine development against this disease.

Keywords: Tuberculosis, immunity, vaccine.
