

# Protección inmune frente a *Mycobacterium tuberculosis*. Papel del interferón-gamma y de los linfocitos T gamma-delta

F.J. Aspa Marco, E. Prieto Gómez, O.I. Rajas Naranjo y B. Nieto Jiménez

Servicio de Neumología. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid.

## Introducción

La tuberculosis sigue siendo la primera causa de muerte debida a un agente infeccioso único, *Mycobacterium tuberculosis*<sup>1</sup>. Se calcula que un tercio de la población mundial está infectada<sup>2</sup> y se ha estimado, según datos de la OMS, que en la presente década habrá 90 millones de nuevos casos y 30 millones de muertes en todo el mundo debidas a tuberculosis<sup>3,4</sup>. Los hechos más notables que han influido en la morbimortalidad de la tuberculosis en los últimos años son el desarrollo de cepas resistentes a los fármacos habitualmente empleados en el tratamiento y su asociación con la infección por el VIH. Las medidas de control más efectivas implican intervenciones activas en salud pública que resulten en la detección temprana y curación de las personas infectadas. Aunque es importante investigar el desarrollo de nuevos fármacos para el tratamiento de la tuberculosis, es esencial conseguir una vacuna efectiva para el control mundial de esta enfermedad. Esto dependerá de la identificación de la respuesta inmune protectora y de los antígenos que inducen esta respuesta<sup>1</sup>.

La respuesta a la infección por *Mycobacterium tuberculosis* varía desde un proceso asintomático a una rápida y grave diseminación. La mayoría de las personas infectadas desarrollan una respuesta inmunitaria que las protege contra el desarrollo de la enfermedad, quedando como única evidencia de infección un test tuberculínico positivo. Una minoría presenta una respuesta no efectiva, desarrollando una enfermedad tuberculosa en los primeros años tras la infección (tuberculosis primaria) o posteriormente durante el desarrollo de su vida (tuberculosis de reactivación). La tuberculosis miliar es la forma más seria de enfermedad y se caracteriza por la diseminación hematogena de un gran número de bacilos por todo el organismo. Es invariablemente fatal sin tratamiento y refleja una respuesta inmunitaria inefectiva,

generalmente manifestada por un test tuberculínico negativo. La tuberculosis pleural se produce cuando un pequeño foco tuberculoso cae en el espacio pleural, desarrollando un derrame pleural exudativo, reflejo de una respuesta de hipersensibilidad retardada. Estos pacientes tienen normalmente un test tuberculínico positivo y, en general, según se desprende de las series históricas, una resolución espontánea si no se les trata.

La respuesta inmunitaria protectora frente a la tuberculosis conlleva la activación de macrófagos infectados (las células centrales de los granulomas) por células T antígeno-específicas, mediante la producción de factores solubles (citocinas), y la consecuente muerte de los bacilos tuberculosos intracelulares. Se sabe que la transferencia de resistencia frente a la tuberculosis en modelos animales es mediada por linfocitos T. Si bien tanto los granulocitos como las células *natural killer* (NK) pueden exhibir efectos bacteriostáticos *in vitro*, no hay suficientes datos experimentales o clínicos que apoyen un papel fundamental de estas células en la defensa del huésped<sup>1,5</sup>. La tuberculosis es el paradigma de enfermedad mediada por inmunidad celular.

Los linfocitos T se caracterizan por expresar en su membrana plasmática el complejo TCR (*T cell receptor*), compuesto por cadenas polimórficas  $\alpha\beta$  o  $\gamma\delta$ , que dan nombre a todo el complejo y que son diferentes en cada clon de linfocitos T (por eso, cada linfocito T puede reconocer un fragmento de antígeno diferente) y por cadenas monomórficas que se denominan colectivamente CD3 (iguales en todos los linfocitos T), cuya función es la transducción de señales. Aunque la secuencia de las cadenas polimórficas es completamente distinta entre los TCR $\alpha\beta$  y  $\gamma\delta$ , la estructura general es muy parecida y recuerda a la de las inmunoglobulinas, al tener regiones constantes (C), variables (V), de unión (J, *joining*), y, en algunos casos, de diversidad (D). Entre los linfocitos T  $\alpha\beta$  se distinguen dos grandes subtipos: los CD4<sup>+</sup> y los CD8<sup>+</sup>. Los primeros se denominan co-operadores (*Th helper*), porque interactúan con otros tipos celulares (linfocitos T, B y macrófagos) y les ayudan a dividirse y a desarrollar sus funciones inmunológicas (sintetizar anticuerpos, expandirse, destruir patógenos, etc.). Los segundos se denominan citolíticos

Correspondencia: Dr. F.J. Aspa Marco.  
Servicio de Neumología. Hospital Universitario de la Princesa.  
Diego de León, 62. 28006 Madrid.

Recibido: 5-5-98; aceptado para su publicación: 19-5-98.

(*Arch Bronconeumol* 1998; 34: 547-553)

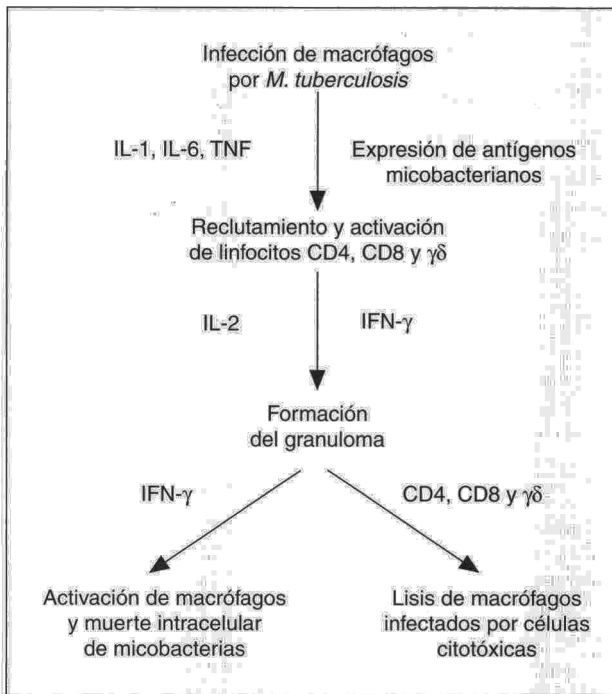


Fig. 1. Protección inmune frente a *M. tuberculosis* (modificada de Wallis RS y Ellner JJ. *Immunology of M. tuberculosis and other mycobacteria*. En: *Pulmonary infections and immunity*. Herman Chmel, ed. Nueva York: Plenum Press 1994; 131).

(Tc), porque interactúan con otros tipos celulares (células infectadas, tumorales) a los que lisan. Entre los linfocitos Th se distinguen dos subtipos que se diferencian por el perfil de citocinas que sintetizan: los Th1, que producen factor de necrosis tumoral (TNF), interleucina 10 (IL-10), interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ) e IL-2, y los Th2, que producen fundamentalmente TNF, IL-6, IL-10, IL-4 e IL-5. Los linfocitos T reconocen antígenos a través de su TCR. Los cambios en la secuencia de aminoácidos de la región variable (V) de las cadenas polimórficas del TCR alteran la configuración del lugar al que se une el antígeno, confiriendo así "especificidad antigénica" a las células T individuales. Los linfocitos CD4<sup>+</sup> reconocen antígenos asociados con moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase II de las células presentadoras de antígeno (APC), mientras que los CD8<sup>+</sup> los reconocen en el contexto de moléculas MHC clase I. Del reconocimiento antigénico de las células T  $\gamma\delta$  trataremos más adelante.

Los macrófagos desempeñan tres funciones muy importantes: a) producen enzimas proteolíticas y otros metabolitos que tienen efectos micobactericidas; b) cuando fagocitan bacilos tuberculosos, también producen citocinas (IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  y TGF- $\beta$ ) que ejercen potentes efectos inmunorreguladores y median muchas de las manifestaciones clínicas de la tuberculosis, y c) procesan y presentan los antígenos micobacterianos a los linfocitos T<sup>5</sup>.

El principal papel en la defensa antimicobacteriana recae en las células CD4<sup>+</sup>, que ha sido la población más estudiada. Así, los ratones en los que se elimina esta

subpoblación, previamente a su infección por *M. bovis*, son incapaces de controlar el crecimiento de micobacterias, mientras que la eliminación de CD8<sup>+</sup> tiene efectos variables<sup>5</sup>. En pacientes con infección por VIH, la frecuencia de micobacteriemia se eleva desde un 4% en pacientes con más de 200 células CD4<sup>+</sup>/ $\mu$ l, a un 49% en pacientes con 100 o menos CD4<sup>+</sup>/ $\mu$ l<sup>6</sup>. El papel de las células CD8<sup>+</sup> en la defensa frente al bacilo tuberculoso no está suficientemente estudiado. Estas células constituyen la principal población citolítica en la defensa frente a microorganismos intracelulares. No producen grandes cantidades de IL-2 y su respuesta depende de las células Th1<sup>1,5</sup>. Las células CD8<sup>+</sup> ovinas pueden lisar directamente células infectadas por *M. tuberculosis* in vitro<sup>7</sup> y ratones deficientes en células CD8<sup>+</sup> desarrollan formas graves de tuberculosis<sup>8</sup>. Estudios recientes han puesto en evidencia la importancia de estas células en la defensa del huésped frente a *M. tuberculosis*, así como su dependencia de la producción de IFN-gamma<sup>9,10</sup>. Esto sugiere un papel complementario entre las células CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> en esta defensa. Se sabe que las células T  $\alpha\beta$  específicas *M. tuberculosis*-reactivas (principalmente las Th1) se acumulan en el sitio de la infección en personas con respuesta inmunitaria protectora, produciendo citocinas que atraen y activan a macrófagos y adicionalmente linfocitos: IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  (implicado en la formación del granuloma), IL-2, IL-6, IL-8 e IL-12<sup>11</sup>. El papel de los linfocitos Th2 (teóricamente desactivador de la respuesta macrófaga y proliferativa a través de la IL-4), aún no está suficientemente aclarado. No obstante, parece que el perfil Th2 en respuesta a antígenos micobacterianos prominentes puede desempeñar un papel en el mecanismo de resistencia defectuosa frente a la infección<sup>12,13</sup>.

Un modelo de inmunidad frente a *M. tuberculosis* podría ser el representado en la figura 1. Sobre este modelo, queremos destacar el papel desempeñado por la citocina IFN- $\gamma$  y los linfocitos T  $\gamma\delta$ .

### Interferón-gamma

El IFN- $\gamma$  se produce principalmente por linfocitos activados Th1, células NK y células CD8<sup>+</sup>. Esta citocina activa los macrófagos alveolares, aumentando su capacidad antimicobacteriana, ya que es un potente estimulador de la síntesis de óxido nítrico de los macrófagos<sup>14</sup>. Esto tiene importantes implicaciones patogénicas<sup>15</sup>, clínicas (la disminución de la producción de IFN- $\gamma$  se considera como marcador de gravedad en la enfermedad tuberculosa y el incremento del ARNm del IFN- $\gamma$  en el líquido broncoalveolar [LBA] puede ser útil como marcador de enfermedad activa)<sup>16,17</sup> e incluso terapéuticas, habiéndose realizado recientemente ensayos clínicos con pacientes afectados de tuberculosis multi-resistente utilizando IFN- $\gamma$  por vía inhalatoria<sup>18</sup>. El IFN- $\gamma$  también activa la respuesta de otros tipos celulares e induce la formación de moléculas MHC clase I y II en las células presentadoras de antígeno (APC). Ratones deficientes en el receptor de IFN- $\gamma$  son incapaces de controlar una infección con *M. bovis* y mueren tras la administración de una dosis normalmente subletal<sup>19,20</sup>.

Recientemente se ha comprobado que en niños con déficit de dicho receptor o con mutación del gen que lo codifica aumenta la susceptibilidad a la infección por micobacterias<sup>21,22</sup>. El IFN- $\gamma$  parece tener también un papel esencial en la generación de células T CD4+ contra BCG vivos<sup>23</sup>. También se ha observado que *M. tuberculosis* induce la producción de IFN- $\gamma$  (mediada, al menos en parte, por IL-12) por macrófagos alveolares, lo que sugiere que este IFN- $\gamma$  podría actuar de una manera autocrina y/o paracrina<sup>24</sup>.

Hasta la fecha, los datos publicados sobre la producción de citocinas por los linfocitos T humanos en respuesta a *M. tuberculosis* son contradictorios. Por un lado, se ha descrito que la mayoría de las células CD4+ *M. tuberculosis*-reactivas producen concentraciones de IFN- $\gamma$  elevadas y de IL-4 e IL-5 disminuidas<sup>25,26</sup> y que el ARNm para las citocinas Th1 (IFN- $\gamma$ , IL-2) predomina sobre el de las Th2 (IL-6, IL-10, IL-4, IL-5) en los granulomas dérmicos del test tuberculínico<sup>27</sup>. Por otro lado, un estudio demuestra que muchos clones de células T *M. tuberculosis*-reactivas secretan IFN- $\gamma$  e IL-4<sup>28</sup>, y otro trabajo señala que muchas de estas células producen citocinas Th1 y Th2, incluyendo IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10<sup>29</sup>. En los pacientes con una pleuritis tuberculosa, la expresión del ARNm de las citocinas Th1, IFN- $\gamma$  e IL-2 es mayor en el líquido pleural que en la sangre<sup>30</sup>, y las concentraciones de IFN- $\gamma$  eran 15 veces superiores en el derrame que en el suero. Los linfocitos del líquido pleural, estimulados con *M. tuberculosis*, producen más IFN- $\gamma$  e IL-2 que los de sangre periférica. Actualmente, se considera que la concentración de IFN- $\gamma$  en el líquido pleural es un buen marcador diagnóstico de derrame pleural tuberculoso, incluso en pacientes inmunocomprometidos<sup>31</sup>. También se ha descrito recientemente que la producción de citocinas Th1, IFN- $\gamma$  e IL-2, por células mononucleares de sangre periférica (PBMC) está deprimida en los pacientes tuberculosos<sup>5,32</sup>, si bien otros autores describen que la expresión de ARNm del IFN- $\gamma$  y el número de células productoras de IFN- $\gamma$  es similar entre PBMC de pacientes con tuberculosis y reactivos sanos del test tuberculínico<sup>12,32</sup>. En pacientes con infección por *M. tuberculosis* y VIH, los resultados preliminares<sup>5,33</sup> sugieren que la infección por VIH deprime la respuesta Th1, pero no aumenta la de Th2, con un efecto global que puede favorecer manifestaciones más graves de la tuberculosis en estos pacientes.

Lo que sí parece claramente demostrado es que el IFN- $\gamma$  desempeña un papel esencial en la respuesta protectora inmune frente a *M. tuberculosis*. Por otra parte, los numerosos intentos realizados para valorar su utilidad en la clínica están dando sus frutos.

Las pruebas de liberación de IFN- $\gamma$  en el diagnóstico de la tuberculosis bovina han sido ampliamente utilizadas en veterinaria en otros países<sup>34-38</sup> y en nuestro medio<sup>39</sup>. Esta técnica se basa en esencia en la estimulación in vitro de sangre heparinizada, usando como antígeno PPD. Como resultado de la estimulación antigénica, los linfocitos T circulantes secretan IFN- $\gamma$ , que es medido mediante una prueba de ELISA. En veterinaria se consideran pruebas con mayor sensibilidad que las intradermorreacciones si el ganado está infectado por

micobacterias. En una prueba de campo efectuada en nuestro medio se apreciaba una mayor sensibilidad para los test de liberación de IFN- $\gamma$  frente a la intradermorreacción<sup>39</sup>. Por otra parte, aportan datos que hacen suponer que se puede discriminar si la respuesta a los test cutáneos es producida por *M. bovis* o por *M. tuberculosis*, según la respuesta específica de IFN- $\gamma$  a los diversos antígenos enfrentados a las células de sangre periférica. Además, en un estudio reciente se ha observado que existe una buena correlación entre los valores de ARNm y los de IL-2 e IFN- $\gamma$  (especialmente con este último) inducidos por PPD bovina y entre los valores de IL-2 e IFN- $\gamma$  con la intradermorreacción y el test de anticuerpos frente a BCG<sup>40</sup>.

Recientemente, se ha comenzado a comparar el test de liberación de IFN- $\gamma$  para el diagnóstico de infección tuberculosa frente a la intradermorreacción con PPD en humanos<sup>41,42</sup>. Los resultados preliminares indican que es una técnica más sensible que esta última, aparte de predecir mejor el estado inmunitario del sujeto, sobre todo si ha sido vacunado previamente, por lo que hoy día se piensa que en el futuro será la prueba de elección para el diagnóstico de la infección tuberculosa<sup>43</sup>.

### Linfocitos T gamma-delta ( $\gamma\delta$ )

El reconocimiento de antígenos por las células T está mediado por el complejo TCR/CD3. La mayoría de estas células T expresan un heterodímero compuesto por cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ , que reconocen antígenos peptídicos sólo en el contexto de moléculas del MHC propias. Así, las células T tienen gran variedad de funciones efectoras y secretan citocinas, que median la activación y diferenciación de otras células en el sistema inmune<sup>44</sup>. Una pequeña población de células CD3+ de sangre periférica (entre el 0,5 y el 15%) expresan un TCR compuesto por cadenas  $\gamma$  y  $\delta$ <sup>45</sup>, y la mayoría de ellas (60-90%) expresan el segmento variable V $\delta$ 2 asociado con el segmento V $\gamma$ 9<sup>46,47</sup>. A pesar de su limitado número, los genes que codifican las subunidades  $\gamma\delta$  del TCR manifiestan una extensa variación en la región de unión ("joining"), particularmente la del gen  $\delta$ , dando como resultado una diversidad sin precedentes<sup>44</sup>. También tienen una enorme variabilidad de secuencia de las regiones CD3 de los TCR, por lo que parece que estas células pueden reconocer una amplia variedad de antígenos<sup>48</sup>. En los últimos 7-8 años se han multiplicado los intentos para identificar la especificidad y la función biológica de este enigmático subgrupo de células T.

Se ha descrito la reactividad de células T  $\gamma\delta$  de sangre periférica en respuesta a antígenos de *M. tuberculosis*<sup>49,50</sup>, así como la proliferación en respuesta a otras micobacterias y microorganismos, como *Listeria*, estreptococo, estafilococo, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Plasmodium*, herpes virus y *Leishmania*<sup>45</sup>, y además, ciertas células de tumores hematopoyéticos son específicamente reconocidas y lisadas por estas células<sup>51</sup>. Actualmente se piensa, en atención a los datos disponibles, que las células T  $\gamma\delta$  tienen un importante papel en la inmunidad efectiva mediada por células frente a microorganismos intracelulares<sup>52</sup>.

Las células T  $\gamma\delta$  han sido estudiadas en la infección humana por lepra y en las lesiones granulomatosas de pacientes con sarcoidosis. Se ha observado que se acumulaban en las lesiones pero no parece que tengan un papel importante en la formación del granuloma<sup>53,54</sup>. Sin embargo, otros estudios<sup>29,44,55</sup> sugieren que la producción de TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  por las células T  $\gamma\delta$  contribuye a la formación de granulomas. Los clones de células T  $\gamma\delta$  *M. tuberculosis*-reactivas producen IFN- $\gamma$ , IL-2 y TNF- $\alpha$ , pero no IL-4, resultando probable su contribución a la formación de granulomas, activación macrofágica y eliminación de micobacterias<sup>55</sup>. Otro estudio indica que los linfocitos T  $\alpha\beta$  y los  $\gamma\delta$  son esenciales para la secreción de IFN- $\gamma$  antígeno específica, siendo crucial el papel de los primeros y accesorio el de los segundos en la inmunidad contra BCG<sup>56</sup>. Otro papel importante atribuido a las células  $\gamma\delta$  es su citotoxicidad antígeno-específica<sup>57</sup>. También se les han atribuido propiedades antiinflamatorias, ya que parece que influyen en el tráfico celular local promocionando el aflujo de linfocitos y monocitos y limitando el acceso de células inflamatorias que no contribuyen a la protección y que pueden causar lesión tisular<sup>58</sup>. Tsukaguchi et al<sup>59</sup> han comparado la respuesta de las células CD4+ y las  $\gamma\delta$  frente al *M. tuberculosis* analizando el reconocimiento de antígenos, la función citotóxica y la producción de citoquinas. Han observado que ambos tipos celulares tienen similares aptitudes en cuanto a citotoxicidad y producción de IFN- $\gamma$ . Sin embargo difieren en cuanto a producción de IL-2 (a favor de las CD4+) y en los antígenos reconocidos. Las células eran enfrentadas a bacilos vivos, PPD y sobrenadante de un cultivo de *M. tuberculosis* tratado con un choque térmico; las CD4+ respondían a todos los estímulos antigénicos, mientras que las  $\gamma\delta$  no lo hacían al estímulo con PPD, respondiendo mejor a los antígenos que estaban en un rango de 10 a 15 kD.

La reciente demostración del reconocimiento de antígenos no peptídicos (distintos, por tanto, de los superantígenos y antígenos peptídicos que reconocen habitualmente las células T  $\alpha\beta$ ) por parte de los linfocitos T  $\gamma\delta$  ha supuesto un avance importante en el conocimiento de su comportamiento biológico. Ya existían evidencias de que estas células reconocían antígenos que eran resistentes a las proteasas<sup>49,60</sup> y que tenían bajo peso molecular (10-14 kD)<sup>61</sup>. Posteriormente se aisló un grupo de 4 antígenos de la cepa H37Ra de *M. tuberculosis* que se llamaron TUBag 1-4 (*tuberculous antigens*), que estimulaban de forma importante a las células  $\gamma\delta$  (inducían rápidamente citotoxicidad y producción de TNF<sup>62</sup>) y que tenían la particularidad de ser moléculas fosforiladas estructuralmente relacionadas<sup>63</sup>. Tanaka et al<sup>51</sup> identificaron poco después antígenos naturales producidos por *M. tuberculosis* y reconocidos por linfocitos T  $\gamma\delta$ , como isopentánil pirofosfato, y derivados relacionados, como prenil pirofosfato, moléculas presentes en células microbianas y de mamíferos, que están implicadas en la síntesis de compuestos poliisoprenoides. Estos "fosfoantígenos" son producidos en gran cantidad por *M. bovis* y *M. tuberculosis* y en escasa cuantía por cepas de BCG, por lo que se ha llegado a sugerir que podrían constituir un determinante inmunológico de virulencia para humanos<sup>64</sup>.

Otra característica interesante de los linfocitos T  $\gamma\delta$  es que el reconocimiento de antígenos no requiere el procesamiento de los mismos y que los péptidos pueden ser reconocidos directamente, sin una aparente restricción MHC, frente a los linfocitos T  $\alpha\beta$ , que reconocen antígenos en el contexto de moléculas del MHC (HLA clase I en caso de los CD8+ y HLA clase II para los CD4+). De hecho, las cadenas  $\gamma$  y  $\delta$  son más parecidas a las inmunoglobulinas que a las cadenas del TCR  $\alpha\beta$ <sup>48,65</sup>. Así, las células T  $\gamma\delta$  se diferencian de las células T  $\alpha\beta$  no sólo por la diferente estructura de las cadenas polimórficas que componen sus respectivos TCR, sino por los grupos de antígenos reconocidos y en la forma de reconocerlos. Tales propiedades pueden permitir a las células  $\gamma\delta$  complementar efectivamente la clásica inmunidad celular mediada por células T  $\alpha\beta$ <sup>48</sup>. De hecho, parece que las células T  $\gamma\delta$  se activan en respuesta a antígenos micobacterianos, pero no proliferan en ausencia de células T CD4+ a menos que se añadan al medio citoquinas Th1 (especialmente IL-2)<sup>66,67</sup>. Incluso se ha apuntado la posibilidad de que la medida de la expansión de las células T V $\gamma$ 9 pueda ser un test sensible para ver la capacidad de funcionamiento de las células T CD4+ Th1 *M. tuberculosis*-específicas en individuos infectados por VIH<sup>68</sup>. Estos resultados, además, tienen implicaciones prácticas para crear condiciones experimentales encaminadas a la identificación de ligandos micobacterianos selectivos de las células T  $\gamma\delta$ .

Otro hallazgo relevante y muy reciente es el de la existencia de "receptores inhibidores" en el 80% de las células T  $\gamma\delta$  análogos a los KIR (receptores inhibidores de las células *natural killer*), principalmente el CD94/NKG2, un complejo receptor perteneciente a la superfamilia de las lectinas tipo C<sup>69</sup>, que reconoce específicamente moléculas HLA de clase I. El "estímulo" de este receptor aumenta el umbral de activación de las células T  $\gamma\delta$  frente a fosfoantígenos micobacterianos, inhibe la lisis de células tumorales y bloquea la secreción de citoquinas. De esta manera, existe un balance entre activación/inhibición de las células T  $\gamma\delta$  (activación por CD3/TCR e inhibición por CD94/NKG2) que podría estar implicado en la patogenia de las infecciones agudas y en la respuesta a células tumorales, así como en el control de la reactividad frente a antígenos propios sin prevenir la activación frente a ligandos microbianos exógenos<sup>70-75</sup>.

Hasta la fecha, los estudios realizados con grupos de personas en distinta situación inmunitaria frente a *M. tuberculosis*, intentando analizar el papel de las células T  $\gamma\delta$  en la respuesta inmune<sup>29,32,52,53,76-82</sup>, han tenido resultados variables y a veces contradictorios, quizá por el escaso número de sujetos analizados en algunos de ellos. Barnes et al<sup>77</sup> han medido la capacidad de proliferación de las células  $\gamma\delta$  en respuesta a *M. tuberculosis* en pacientes con diferentes formas de enfermedad. Después de 10 días de cultivo in vitro el porcentaje de células  $\gamma\delta$  positivas era significativamente mayor en pacientes con respuesta inmune protectora y resistente a la infección (reactores tuberculínicos sanos y pacientes con pleuritis tuberculosa) que en aquellos con inmunidad inefectiva (pacientes con tuberculosis avanzada y con tuberculosis miliar). Ueta et al<sup>78</sup> han analizado la respuesta de PBMC

en respuesta a PPD en tres grupos de sujetos, sanos expuestos al bacilo, sanos no expuestos y enfermos de tuberculosis. Los sanos son integrantes de la plantilla de un hospital, considerados como expuestos o no según su puesto de trabajo. El porcentaje de células T  $\gamma\delta$  en sangre periférica de los trabajadores sanitarios con tests tuberculínicos positivos y que estaban en continuo contacto con pacientes bacilíferos fue significativamente mayor que en los otros dos grupos (sanos no expuestos y enfermos de tuberculosis). En este grupo de sanos expuestos, las células T  $\gamma\delta$  proliferan con PPD. Li et al<sup>79</sup>, en otro estudio, han observado que existe una fuerte correlación entre la ausencia o pérdida de *pool* de células T  $\gamma\delta$  reactivas *M. tuberculosis* y las manifestaciones de enfermedad. No obstante, en otros trabajos o bien no se encuentran diferencias en el porcentaje y en la respuesta proliferativa de estas células entre enfermos o controles, o bien se observa un aumento en su número en pacientes con enfermedad activa<sup>80-82</sup>.

En los sujetos con una infección por el VIH se ha observado una anergia de las células T  $\gamma\delta$  (especialmente del subgrupo V $\delta$ 2), que no puede ser atribuida a apoptosis<sup>83</sup> y que podría explicarse por una pérdida del *pool* de células CD4<sup>+</sup><sup>68,84</sup>, aunque en un trabajo reciente<sup>85</sup> se demuestra que estas alteraciones están presentes incluso en sujetos VIH+ asintomáticos que aún no tienen una pérdida sustancial de células CD4.

En resumen, la respuesta inmunitaria frente a *M. tuberculosis* es compleja y en ella se hallan involucrados diferentes antígenos y varias poblaciones celulares, y se caracteriza por la activación tanto de células T, que expresan el TCR  $\alpha\beta$  (CD4 y CD8), como de las que expresan el TCR  $\gamma\delta$ . Las células T  $\alpha\beta$  CD4 (junto con los macrófagos) son la principal subpoblación en la respuesta inmunitaria al *M. tuberculosis*, secretando fundamentalmente IFN- $\gamma$  e IL-2 (respuesta Th1). La población de células T  $\gamma\delta$ , concretamente las V $\gamma$ 9V $\delta$ 2, se caracteriza por reconocer antígenos no peptídicos de pequeño peso molecular (fosfoantígenos) sin el procesamiento de los mismos y, a pesar de su limitado número, tienen una función importante en la inmunidad mediada por células frente a microorganismos intracelulares y frente a células tumorales. Quedan aún por resolver muchas cuestiones acerca de la biología de estas células y de su comportamiento en la enfermedad tuberculosa. Las respuestas a estas cuestiones pueden ser muy valiosas para facilitar la obtención de una vacuna efectiva o para diseñar nuevas estrategias terapéuticas. El IFN- $\gamma$  es la principal citocina activadora involucrada en la respuesta del huésped a *M. tuberculosis*. Su utilidad clínica y terapéutica ya ha comenzado a evaluarse y los resultados preliminares son esperanzadores, pero quizá lo más significativo es que a corto plazo podríamos disponer de una técnica (medición de IFN- $\gamma$  tras estimulación in vitro de sangre heparinizada con PPD), realizable en la clínica y con determinación cuantitativa de los resultados, que permita obtener un diagnóstico de infección tuberculosa más sensible y específico que el proporcionado por la clásica intradermorreacción con PPD, de lo que se derivarían importantes implicaciones, sobre todo en lo que a quimioprofilaxis se refiere.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Cooper AM, Flynn J. The protective immune response to *Mycobacterium tuberculosis*. *Curr Opin Immunol* 1995; 7: 512-516.
2. Reichman LB. Tuberculosis elimination – what's to stop us? *Int J Tuberc Lung Dis* 1997; 1: 3-11.
3. Ait Khaled N, Enarson D, Billo N. The epidemiology of tuberculosis and of the resistance to antitubercular agents. *Rev Mal Respir* 1997; 14 (Supl): 8-18.
4. Raviglione MC, Snider DE, Kochi A. Global epidemiology of tuberculosis. *J Am Med Ass* 1995; 273: 220-226.
5. Barnes R. Cytokine production in tuberculosis. En: Romm y Garay, editores. *Tuberculosis*. Boston: Little, Brown and Company, 1996: 291-303.
6. Jones BE, Young SMM, Antoniskis D, Davidson T, Dramer F, Barnes PF. Relationship of the manifestations of tuberculosis to CD4 cell counts in patients with human immunodeficiency virus infection. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 1.292-1.297.
7. Kaufmann SH. CD8+ T lymphocytes in intracellular microbial infections. *Immunol Today* 1988; 9: 168-174.
8. Flynn JL, Goldstein MM, Triebold KJ, Koller B. Major histocompatibility complex class I-restricted T cells are required for resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992; 89: 1.203-1.217.
9. Lalvani A, Brookes R, Wilkinson RJ, Malin AS, Pathan AA, Andersen P et al. Human cytolytic and interferon gamma-secreting CD8+ T lymphocytes specific for *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 270-275.
10. Tascon RE, Stavropoulos E, Lukacs KV, Colston MJ. Protection against *Mycobacterium tuberculosis* infection by CD8+ T cells requires the production of gamma interferon. *Infect Immunol* 1998, 66: 830-834.
11. Munk ME, Emoto M. Functions of T-cell subsets and cytokines in mycobacterial infections. *Eur Respir J* 1995; 20 (Supl): 668-675.
12. Surcel HM, Troye-Blomberg M, Paulie S, Anderson G, Moreno C, Pasvol G et al. Th1/Th2 profiles in tuberculosis, based on the proliferation and cytokine response of blood lymphocytes to mycobacterial antigens. *Immunology* 1994; 81: 171-176.
13. Torres M, Herrera T, Villareal H, Rich EA, Sada E. Cytokine profiles for peripheral blood lymphocytes from patients with active pulmonary tuberculosis and healthy household contacts in response to the 30-kilodalton antigen of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immunol* 1998; 66: 176-180.
14. Roach TIA, Barton CH, Chatterjee D, Liew FY, Blackwell JM. Opposing effects of interferon- $\gamma$  and interleukin-10 expression in lipopolysaccharide- and mycobacterial lipoarabinomannan-stimulated macrophages. *Immunology* 1995; 85: 106-113.
15. Kaufmann SH, Ladel CH, Flesch IE. T cells and cytokines in intracellular bacterial infections. Experiences with *Mycobacterium bovis* BCG. *Ciba Found Symp* 1995; 195: 123-132.
16. Sodhi A, Gong J, Silva C, Qian D, Barnes PF. Clinical correlates of interferon  $\gamma$  production in patients with tuberculosis. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 617-620.
17. Taha RA, Kotsimbos TC, Song YL, Menzies D, Hamid Q. IFN- $\gamma$  and IL-12 are increased in active compared with inactive tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1.135-1.139.
18. Condos R, Rom WN, Schluger NW. Treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis with interferon- $\gamma$  via aerosol. *Lancet* 1997; 349: 1.513-1.515.
19. Dalton DK, Pitts-Meek S, Keshav S, Figari IS, Bradley A, Stewart TA. Multiple defects of immune cell function in mice with disrupted interferon- $\gamma$  genes. *Science* 1993; 259: 1.739-1.742.
20. Kamijo R, Le J, Shapiro D, Havell EA, Huang S, Aguet M et al. Mice that lack the interferon- $\gamma$  receptor have profoundly altered responses to infection with *Bacillus Calmette-Guérin* and subsequent challenge with lipopolysaccharide. *J Exp Med* 1993; 178: 1.435-1.440.
21. Newport MJ, Huxley CM, Huston S, Hawrylowicz CM, Oostra BA, Williamson R et al. A Mutation in the interferon- $\gamma$ -receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *N Engl J Med* 1996; 335: 1.941-1.949.
22. Jouanguy E, Altare F, Lamhamedi S, Revy P, Emile JF, Levin M et al. Interferon- $\gamma$ -receptor deficiency in an infant with fatal bacille Calmette-Guérin infection. *N Engl J Med* 1996; 335: 1.956-1.961.
23. Yang J, Mitsuyama M. An essential role for endogenous interferon- $\gamma$  in the generation of protective T cells against *Mycobacterium bovis* BCG in mice. *Immunology* 1997; 91: 529-535.

24. Fenton MJ, Vermeulen MW, Kim S, Burdick M, Strieter RM, Komfeld H. Induction of gamma interferon production in human alveolar macrophages by *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immunol* 1997; 65: 5.149-5.156.
25. Del Prete GF, De Carli M, Mastromauro C, Biagiotti R, Macchia D. Purified Protein Derivative of *Mycobacterium tuberculosis* and excretory-secretory antigen(s) of *Toxocara canis* expand in vitro human T cells with stable and opposite (Type 1 T helper or Type 2 T helper) profile of cytokine production. *J Clin Invest* 1991; 88: 346-350.
26. Haanen J, Malefijt R, Res P, Kraakman E, Ottenhoff T, Vries R. Selection of a human T helper type 1-like T cell subset by *Mycobacteria*. *J Exp Med* 1991; 174: 583-592.
27. Tscikopoulos A, Hamid Q, Varney V, Ying S, Moqbel R, Durham S, Kay A. Preferential messenger RNA expression of Th1-type cells (IFN- $\gamma$ , IL-2+) in classical delayed-type (tuberculin) hypersensitivity reactions in human skin. *J Immunol* 1992; 148: 2.058-2.061.
28. Boom WH, Wallis RS, Chervenak KA. Human *Mycobacterium tuberculosis*-reactive CD4+ T-Cell clones: heterogeneity in antigen recognition, cytokine production, and cytotoxicity for mononuclear phagocytes. *Infect Immunol* 1991; 59: 2.737-2.743.
29. Barnes PF, Abrams JS, Lu S, Sieling PA, Rea TH, Modlin RL. Patterns of cytokine production by mycobacteria-reactive human T-cell clones. *Infect Immunol* 1993; 61: 197-203.
30. Barnes PF, Lu S, Abrams JS, Wang E, Yamamura M, Modlin RL. Cytokine production at the site of disease in human tuberculosis. *Infect Immunol* 1993; 61: 3.482-3.489.
31. Villena V, López-Encuentra A, Echave-Sustaeta J, Martín-Escribano P, Ortuño de Solo B, Estenoz-Alfaro J. Interferon- $\gamma$  in 388 immunocompromised and immunocompetent patients for diagnosing pleural tuberculosis. *Eur Respir J* 1996; 9: 2.635-2.639.
32. Sánchez F, Rodríguez J, Agudelo G, García L. Immune responsiveness and lymphokine production in patients with tuberculosis and healthy controls. *Infect Immunol* 1994; 62: 5.673-5.678.
33. Zhang M, Gong J, Lyer DV, Jones BE, Modlin RL, Barnes PF. T Cell cytokine responses in persons with tuberculosis and human immunodeficiency virus infection. *J Clin Invest* 1994; 94: 2.435-2.442.
34. Rothel JS, Jones SL, Corner LA, Cox JC, Wood PR. A sandwich enzyme immunoassay for bovine interferon- $\gamma$  and its use for the detection of tuberculosis in cattle. *Aust Vet J* 1990; 67: 134-137.
35. Wood PR, Corner LA, Plackett P. Development of a simple, rapid in vitro cellular assay for bovine tuberculosis based on the production of  $\gamma$  interferon. *Res Vet Sci* 1990; 49: 46-49.
36. Wood PR, Corner LA, Rothel JS, Baldock C, Jones SL, Cousins DB et al. Field comparison of the interferon-gamma assay and the intradermal tuberculin test for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Aust Vet J* 1991; 68: 286-290.
37. Whipple DL, Bolin CA, Davis AJ, Jarnagin JL, Johnson DC, Nabors RS et al. Comparison of the sensitivity of the caudal fold skin test and a commercial  $\gamma$ -interferon assay for diagnosis of bovine tuberculosis. *Am J Vet Res* 1995; 56: 415-419.
38. Neill SD, Hanna CJ, Mackie DP, Pollock JM, Clements A, Walton E et al. Detection of *Mycobacterium bovis* infection in skin test-negative cattle with an assay for bovine interferon-gamma. *Vet Rec* 1994; 135: 134-135.
39. Domingo M, Liébana E, Carrera J, Vilafranca M, Casal J, Aranaz A et al. Eficacia comparativa de la intradermorreacción y de la prueba de liberación de  $\gamma$ -interferón para el diagnóstico de la tuberculosis bovina en una prueba de campo. *Med Vet* 1995; 12: 307-317.
40. Ng KH, Aldwell FE, Wedlock DN, Watson JD, Buddle BM. Antigen-induced interferon- $\gamma$  and interleukin-2 responses of cattle inoculated with *Mycobacterium bovis*. *Vet Immunol Immunopathol* 1997; 57: 59-68.
41. Converse PJ, Jones SL, Astemborski J, Vlahov D, Graham N. Comparison of a tuberculin interferon- $\gamma$  assay with the tuberculin skin test in high-risk adults: effect of human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1997; 176: 144-150.
42. Streeton JA, Desem N, Jones SL. *Quantiferon-TB*: a new in vitro test for tuberculosis and atypical mycobacterial infection. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: A511.
43. Lein AD, Von Reyn CF. In vitro cellular and cytokine responses to mycobacterial antigens: application to diagnosis of tuberculosis infection and assessment of response to mycobacterial vaccines. *Am J Med Sci* 1997; 313: 364-371.
44. Modlin RL, Pirmez C, Hofman FM, Torigian V, Uyemura K, Rea TH et al. Lymphocytes bearing antigen specific  $\gamma\delta$  T-cell receptors accumulate in human infectious disease lesions. *Nature* 1989; 339: 544-548.
45. Modlin RL, Barnes R. Gamma-Delta T cells and *Mycobacterium*. En: Romm y Garay, editores. *Tuberculosis*. Boston: Little, Brown and company 1996; 329-334.
46. Parker CM, Groh H, Band SA, Porcelli C, Morita C, Fabbi M et al. Evidence for extrathymic changes in the T cell receptor gamma/delta repertoire. *J Exp Med* 1990; 171: 1.597.
47. Triebel F, Faure F, Mami-Chouaib F, Jitsukawa S, Griscelli A, Genevée C et al. A novel human V delta gene expressed predominantly in the T<sub>H</sub>1 fraction of gamma/delta+ peripheral lymphocytes. *Eur J Immunol* 1988; 18: 2.021.
48. Chien Y, Jores R, Crowley MP. Recognition by  $\gamma\delta$  T Cells. *Annu Rev Immunol* 1996; 14: 511-532.
49. Tsuyuguchi I, Kawasumi H, Ueta C, Yano I, Kishimoto S. Increase of T-cell receptor  $\gamma\delta$ -bearing T cells in cord blood of newborn babies obtained by in vitro stimulation with mycobacterial cord factor. *Infect Immunol* 1991; 59: 3.053-3.059.
50. Panchamoorthy G, McLean J, Modlin RL, Morita C, Ishikawa S, Brenner MB et al. A predominance of the T cell receptor V $\gamma$ 2/V $\delta$ 2 subset in human mycobacteria-responsive T cells suggests germline gene encoded recognition. *J Immunol* 1991; 147: 3.360-3.369.
51. Tanaka Y, Morita CT, Tanaka Y, Nieves E, Brenner MB, Bloom BR. Natural and synthetic non-peptide antigens recognized by human  $\gamma\delta$  T cells. *Nature* 1995; 375: 155-158.
52. García VE, Sieling PA, Gong J, Barnes PF, Uyemura K, Tanaka Y et al. Single-Cell cytokine analysis of  $\gamma\delta$  T cell responses to non-peptide mycobacterial antigens. *J Immunol* 1997; 159: 1.328-1.335.
53. Fujita M, Miyachi Y, Nakata K, Imamura S.  $\gamma\delta$  T-cell receptor-positive cells in human skin. I. Incidence and V-region gene expression in granulomatous skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 46-50.
54. Tazi A, Fajac I, Soler P, Valeyre D, Battesti JP, Hance AJ. Gamma/Delta T-lymphocytes are not increased in number in granulomatous lesions of patients with tuberculosis or sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 1.373-1.375.
55. Follows G, Munk ME, Gatrill AJ, Conrad P, Kaufmann SHE. Gamma interferon and interleukin 2, but not interleukin 4, are detectable in  $\gamma\delta$  T-cell cultures after activation with bacteria. *Infect Immunol* 1992; 60: 1.229-1.231.
56. Ladel SH, Hess J, Daugelat S, Mombaerts P, Tonegawa S, Dauffmann SHE. Contribution of  $\alpha/\beta$  and  $\gamma\delta$  T lymphocytes to immunity against *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette Guérin: studies with T cell receptor-deficient mutant mice. *Eur J Immunol* 1995; 25: 838-846.
57. Munk ME, Gatrill AJ, Kaufmann SHE. Target cell lysis and IL-2 secretion by  $\gamma\delta$  T lymphocytes after activation with bacteria. *J Immunol* 1990; 145: 2.434-2.439.
58. D'Souza CD, Cooper AM, Frank AA, Mazzaccaro RJ, Bloom BR, Orme IM. An anti-inflammatory role for  $\gamma\delta$  T lymphocytes in acquired immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol* 1997; 158: 1.217-1.221.
59. Tsukaguchi K, Balaji KN, Boom WH. CD4+  $\alpha\beta$  T cell and  $\gamma\delta$  T cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*. Similarities and differences in Ag recognition, cytotoxic effector function, and cytokine production. *J Immunol* 1995; 154: 1.786-1.796.
60. Pfeffer KB, Schoel B, Gulle H, Kaufmann SH, Vagner H. Primary responses of human T cells to mycobacteria: a frequent set of gamma/delta T cells are stimulated by protease-resistant ligands. *Eur J Immunol* 1990; 20: 1.175.
61. Boom WH, Balaji KN, Nayak R, Tsukaguchi K, Chervenak KA. Characterization of a 10- to 14- Kilodalton protease-sensitive *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra antigen that stimulates human  $\gamma\delta$  T cells. *Infect Immunol* 1994; 62: 5.511-5.518.
62. Lang F, Peyrat MA, Constant P, Davodeau F, Dvid-Ameline J, Poquet Y et al. Early Activation of human V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cell broad cytotoxicity and TNF production by nonpeptidic mycobacterial ligands. *J Immunol* 1995; 154: 5.986-5.994.
63. Constant P, Davodeau F, Peyrat MA, Poquet Y, Puzo G, Bonneville M et al. Stimulation of human  $\gamma\delta$  T cells by nonpeptidic mycobacterial ligands. *Science* 1994; 264: 267-270.
64. Constant P, Poquet Y, Peyrat MA, Davodeau F, Bonneville M, Fournié JJ. The anti-tubercular *Mycobacterium bovis* BCG vac-

- ne is an attenuated mycobacterial producer of phosphorylated non-peptidic antigens for human  $\gamma\delta$  T cells. *Infect Immunol* 1995; 63: 4.628-4.633.
65. Li H, Lebedeva MI, Llera AS, Fields BA, Brenner MB, Mariuzza RA. Structure of the Vdelta domain of a human gamma-delta T-cell antigen receptor. *Nature* 1998; 391: 502-506.
  66. Pechhold K, Wesch D, Schondelmaier S, Kabelitz D. Primary activation of V $\gamma$ 9-expressing  $\gamma\delta$  T cells by *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol* 1994; 152: 4.984-4.992.
  67. Wesch D, Marx S, Kabelitz D. Comparative analysis of  $\alpha\beta$  and  $\gamma\delta$  T cell activation by *Mycobacterium tuberculosis* and isopentenyl pyrophosphate. *Eur J Immunol* 1997; 27: 952-956.
  68. Wesch D, Kabelitz D, Friese K, Pechhold K. Mycobacteria-reactive  $\gamma\delta$  T cells in HIV-infected individuals: lack of V $\gamma$ 9 cell responsiveness is due to deficiency of antigen-specific CD4 T helper type 1 cells. *Eur J Immunol* 1996; 26: 557-562.
  69. López-Botet M, Carretero M, Bellón T, Pérez-Villar JJ, Llano M, Navarro F. The CD94/NKG2 C-type lectin receptor complex. *Curr Top Microbiol Immunol* 1998; 230: 41-52.
  70. Carena I, Shamshiev A, Donda A, Colonna M, De Libero G. Major histocompatibility complex class I molecules modulate activation threshold and early signaling of T cell antigen receptor- $\gamma\delta$  Stimulated by nonpeptidic ligands. *J Exp Med* 1997; 186: 1.769-1.774.
  71. Battistini L, Borsellino G, Swicki G, Poccia F, Salvetti M, Ristori G et al. Phenotypic and cytokine analysis of human peripheral blood  $\gamma\delta$  T cells expressing NK cell receptors. *J Immunol* 1997; 159: 3.723-3.730.
  72. Poccia F, Cipriani B, Vendetti S, Colizzi V, Poquet Y, Battistini L et al. CD94/NKG2 inhibitory receptor complex modulates both anti-viral and anti-tumoral responses of polyclonal phosphoantigen-reactive V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T lymphocytes. *J Immunol* 1997; 159: 6.009-6.017.
  73. Halary F, Peyrat MA, Champagne E, López-Botet M, Moretta A, Moretta L et al. Control of self-reactive cytotoxic T lymphocytes expressing  $\gamma\delta$  T cell receptors by natural killer inhibitory receptors. *Eur J Immunol* 1997; 27: 2.812-2.821.
  74. Colonna M, Navarro F, Bellón T, Llano M, García P, Samaridis J et al. A common inhibitory receptor for major histocompatibility complex class I molecules on human lymphoid and myelomonocytic cells. *J Exp Med* 1997; 186: 1.809-1.818.
  75. Fisch P, Meuer E, Pende D, Rothenfusser S, Viale O, Koch S et al. Control of B cell lymphoma recognition via natural killer inhibitory receptors implies a role for human Vgamma9/Vdelta2 T cells in tumor immunity. *Eur J Immunol* 1997; 27: 3.368-3.379.
  76. Falini B, Flenghi L, Pileri S, Pelicci P, Fagioli M, Martelli MF et al. Distribution of T cells bearing different forms of the T cell receptor  $\gamma\delta$  in normal and pathological human tissues. *J Immunol* 1989; 143: 2.480-2.488.
  77. Barnes PF, Grisso CL, Abrams JS, Band H, Rea TH, Modlin RL.  $\gamma\delta$  T lymphocytes in human tuberculosis. *J Infect Dis* 1992; 146: 1.216-1.221.
  78. Ueta C, Tsuyuguchi I, Kawasumi H, Takashima T, Toba H, Kishimoto S. Increase of  $\gamma\delta$  T cells in hospital workers who are in close contact with tuberculosis patients. *Infect Immunol* 1994; 62: 5.434-5.441.
  79. Li B, Rossman MD, Imir T, Oner-Eyuboglu AF, Lee C, Biancaniello R et al. Disease-specific changes in  $\gamma\delta$  T cell repertoire and function in patients with pulmonary tuberculosis. *J Immunol* 1996; 157: 4.222-4.229.
  80. Ito M, Kojiro N, Ikeda T, Ito T, Funada J, Kokubu T. Increased proportions of peripheral blood  $\gamma\delta$  T cells in patients with pulmonary tuberculosis. *Chest* 1992; 102: 195-197.
  81. Tazi A, Bouchonnet F, Valeyre D, Cadranet J, Battesti JP, Hance AJ. Characterization of  $\gamma\delta$  T-lymphocytes in the peripheral blood of patients with active tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1992; 148: 1.216-1.221.
  82. Balikó Z, Szereday L, Szekeres-Bartho J.  $\gamma\delta$  T lymphocytes in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Thorax* 1997; 52: 375-377.
  83. Poccia F, Boullier S, Lecoeur H, Cochet M, Poquet Y, Colizzi V et al. Peripheral V $\gamma$ 9/V $\delta$ 2 T cell deletion and anergy to nonpeptidic mycobacterial antigens in asymptomatic HIV-1 infected persons. *J Immunol* 1996; 157: 449-461.
  84. Chevernak KA, Lederman MM, Boom WH. Bacterial antigen activation of V $\delta$ 1 and V $\delta$ 2  $\gamma\delta$  T cells of persons infected with human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 1997; 175: 429-433.
  85. Wallace M, Scharko AM, Pauza CD, Fish P, Imaoka K, Kawabata S et al. Functional  $\gamma\delta$  T-lymphocyte defect associated with human immunodeficiency virus infections. *Mol Med* 1997; 3: 60-61.