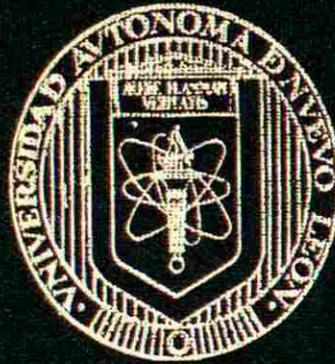


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA



ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNE POR  
ANTICUERPOS Y CITOCINAS Th1 y Th2 EN  
RATONES MRLI<sup>pr</sup> INFECTADOS CON BACTERIAS  
O HELMINTOS

Por

MARIA GUADALUPE DE LA CRUZ GALICIA

Como requisito parcial para obtener el Grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en Inmunología

Febrero, 2006

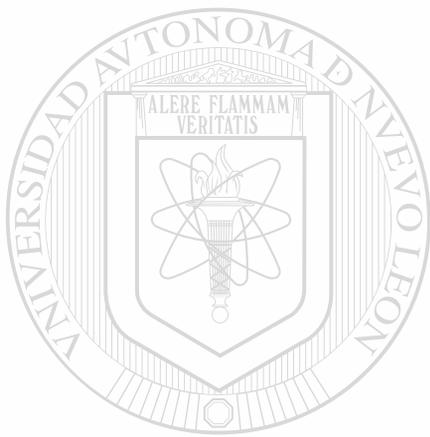
TD  
QR185  
.8  
.C95  
C7  
2006  
c.1

2006

MARIA GUADALUPE DE LA CRUZ GALLICIA



1080128442



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE MEDICINA**



**ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNE POR ANTICUERPOS  
Y CITOCINAS Th1 y Th2 EN RATONES MRL/lpr INFECTADOS  
CON BACTERIAS O HELMINTOS**

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Por

®

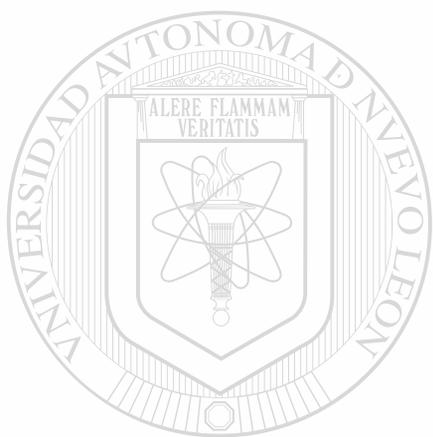
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**MARÍA GUADALUPE DE LA CRUZ GALICIA**

**Como requisito parcial para obtener el Grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en Inmunología**

**Febrero, 2006**

QR 185  
.8  
.C95  
C7  
2006



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



**ESTUDIOS DE LA RESPUESTA INMUNE POR ANTICUERPOS Y CITOCINAS  
Th1 Y Th2 EN RATONES MRL/lpr INFECTADOS CON BACTERIAS O  
HELMINTOS**

**Aprobación de la Tesis:**



---

**DR. MARIO ALBERTO GARZA ELIZONDO**  
Director de Tesis



---

**DR. MARIO CÉSAR SALINAS CARMONA**  
Co-Director de Tesis



---

**DR. CARLOS EDUARDO MEDINA DE LA GARZA**  
Comisión de Tesis



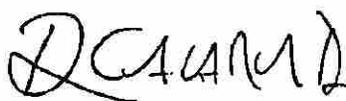
---

**DRA. AGNES REVOL DE MENDOZA**  
Comisión de Tesis



---

**DRA. MARÍA DE LOS ANGELES CASTRO CORONA**  
Comisión de Tesis



---

**DR. DIONICIO A. GALARZA DELGADO**  
Subdirector  
de Estudios de Posgrado

**ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNE POR ANTICUERPOS Y CITOCINAS Th1 y  
Th2 EN RATONES MRL/lpr INFECTADOS CON BACTERIAS O HELMINTOS**

El presente trabajo fue realizado por **María Guadalupe de la Cruz Galicia** en el Departamento de Inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección del Dr. Mario Alberto Garza Elizondo y la co-asesoría del Dr. Mario César Salinas Carmona. Apoyado parcialmente por la Universidad Autónoma de nuevo León (PAICYT).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS  
Agradezco a CONACYT la beca- crédito otorgada.

## DEDICATORIA

### A MIS PADRES

Consuelo y Lucio, son una bendición en mi vida y una luz en mi camino.

Gracias Dios por cuidar de ellos

### A MIS HERMANOS

—Armando, Jesús, Lucio y Carlos por el gran cariño que nos une y por su apoyo incondicional en todo momento. Los quiero mucho

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## **AGRADECIMIENTOS**

**Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Mario Alberto Garza Elizondo, asesor de mi tesis por haber confiado en mi para la realización del presente trabajo, gracias por esta oportunidad. Así como al Dr. Mario César Salinas Carmona por su valiosa colaboración como co-asesor, gracias por sus consejos. Al Dr. Carlos Eduardo Medina De la Garza, a la Dra. Agnes Revol de Mendoza y a la Dra. Angeles Castro Corona por sus sugerencias e interés para que esta trabajo llegara a buen término**

**Al Dr. Eloy Caballero Mendoza y a la Sra. Chiquis, gracias por su valiosa ayuda, sus consejos y su amistad.**

**A la Dra. Alma Yolanda Arce Mendoz por sus sabios consejos y su apoyo en todo momento. Gracias por sus palabras de ánimo y por su amistad.**

**A las doctoras Anna Velia Vázquez, Luz Isabel Pérez, y Angeles Castro Corona, al M.C. Adrián Rosas por su valiosa amistad y apoyo incondicional en todo momento.**

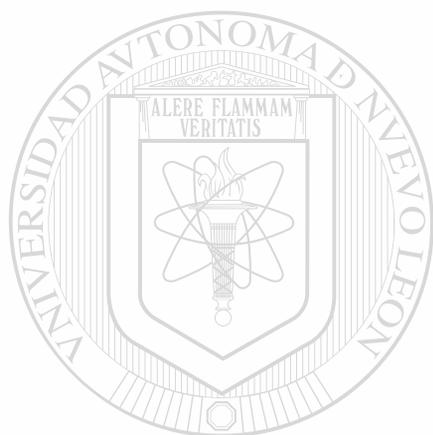
**Al personal de los Departamentos de Inmunología, Reumatología, Patología y Posgrado de la Facultad de Medicina de la UANL. En especial por las secretarias Norma Sanchez y Patricia Cantú, así como por mis compañeras Irasema y Araceli, gracias por su amistad y apoyo en todo momento.**

**Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo económico para la realización de mis estudios y a la Facultad de Ciencias Químicas de la UAC por esta oportunidad de realizar mis estudios de posgrado**

## INDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
RESUMEN	
INTRODUCCIÓN	1
HIPÓTESIS	22
OBJETIVOS	23
MATERIALES Y METODOS	24
1. Animales de laboratorio	24
2. Antígenos	24
3. Helmintos	24
4. Microorganismos	24
5. Preparación de los cultivos bacterianos	25
6. Preparación de los cultivos de helmintos	26
<hr/>	
7. Obtención de Antígenos	28
8. Determinación de proteínas por el método de Bradford	29
9. Análisis del patrón electroforético de los antígenos microbianos	29
10. Tratamiento de los grupos de ratones MRL/lpr	31
11. Determinación de anticuerpos séricos	32
12. Determinación de citocinas	36
13. Evaluación clínica e histopatológica	38
14. Análisis estadístico	39

<b>CONTENIDO</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>40</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>54</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>59</b>
<b>PERSPECTIVAS</b>	<b>60</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>61</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>104</b>



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## LISTA DE FIGURAS

FIGURAS	PAGINA
1. Análisis del patrón electroforético de HES, NES y del ECC de <i>Nocardia brasiliensis</i>	41
2. Determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a en ratones MRL/lpr infectados con <i>Heligmosomoides polygyrus</i> .	42
3. Determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a en ratones MRL/lpr infectados con <i>Nippostrongylus brasiliensis</i> .	43
4. Determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a en ratones MRL/lpr infectados con <i>Nocardia brasiliensis</i> .	44
5. Determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a en ratones MRL/lpr infectados con <i>Staphylococcus aureus</i> .	45
6. Determinación de IFN- $\gamma$ en ratones MRL/lpr infectados con bacterias o helmintos.	46
7. Determinación de IL-4 en ratones MRL/lpr infectados con bacterias o helmintos.	47
8. Evaluación clínica de la artritis en el ratón MRL/lpr	48
9. Histopatología de la articulación en el ratón MRL/lpr	49
10. Etapas de daño articular en la artritis del ratón MRL/lpr	50

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
<b>I. Parásitos empleados en el tratamiento de las enfermedades Autoinmunes</b>	<b>17</b>
<b>II. Condiciones experimentales para la determinación de Ac anti-bacteria y anti-parásito</b>	<b>37</b>
<b>III. Concentración de antígenos obtenidos a partir de los helmintos y de <i>Nocardia brasiliensis</i></b>	<b>40</b>
<b>IV. Las bacterias y los helmintos afectan la artritis espontánea en el ratón MRL/lpr</b>	<b>52</b>

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## RESUMEN

**María Guadalupe de la Cruz Galicia**

**Febrero de 2006**

**Universidad Autónoma de Nuevo León**

**Facultad de Medicina**

**Título del Estudio: ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNE POR ANTICUERPOS Y CITOCINAS Th1 y Th2 EN RATONES MRL/lpr AFECTADOS CON BACTERIAS O HELMINTOS**

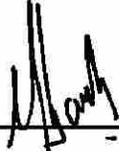
**Número de Páginas: 105**

**Candidato al Grado de Doctor en Ciencias con Especialidad en Inmunología.**

**Área de estudio: Inmunología**

**Propósito y Método del Estudio:** La artritis reumatoide es una enfermedad crónica, degenerativa y discapacitante que afecta al 3% de la población mundial. Se ha relacionado a las infecciones microbianas como agentes desencadenantes de la enfermedad, sin embargo, estudios recientes han demostrado que la infección con helmintos podría regular los mecanismos de inflamación presentes en artritis y otras enfermedades autoinmunes. En el presente trabajo se estudió el efecto de las infecciones con las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Nocardia brasiliensis*, así como con los helmintos *Nippostrongylus brasiliensis* y *Heligmosomoides polygyrus* en la evolución de la artritis en el ratón MRL/lpr. Los ratones MRL/lpr de 12 semanas de edad fueron infectados con bacterias o helmintos, y 6 semanas después evaluados en forma clínica e histopatológica. Se realizó la determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a antibacteriana y anti-parásitos, de citocinas Th1 (IFN- $\gamma$ ) y Th2 (IL-4), así como el análisis histopatológico de tejido articular. Se correlacionó el nivel de anticuerpos, la producción de citocinas y los hallazgos histopatológicos de tejido articular. Se correlacionó el nivel de anticuerpos, la producción de citocinas y los hallazgos histopatológicos con la evolución de la artritis en el ratón MRL/lpr.

**Contribuciones y conclusiones:** Los hallazgos encontrados muestran que los grupos de ratones MRL/lpr infectados con bacterias presentaron principalmente una respuesta caracterizada por la producción de IgG2a e IFN- $\gamma$  (asociada con una respuesta de tipo Th1 en el ratón) mientras que aquellos infectados con helmintos mostraron una respuesta por IgG1 e IL-4 (asociada con una respuesta de tipo Th2 en el ratón), el análisis histopatológico mostró que el 100% de los ratones infectados con bacterias desarrollaron artritis y presentaron en su mayoría alteraciones histopatológicas avanzadas tales como la erosión del cartílago y hueso, mientras que en aquellos infectados con helmintos el daño histopatológico fue en menor grado (hiperplasia sinovial y erosión del cartílago), además un número menor de ratones desarrollaron artritis (70%). De lo anterior se concluye que la infección con bacterias o helmintos parece modificar la evolución de la artritis que desarrolla el ratón MRL/lpr, activando e inhibiendo respectivamente su evolución.



---

**Dr. Mario Alberto Garza Elizondo**  
Director de Tesis

## **INTRODUCCIÓN**

Aproximadamente, un 20% de la población mundial se encuentra afectada por alguna enfermedad inflamatoria o autoinmune. Puesto que las enfermedades autoinmunes son de etiología multifactorial, esto hace difícil identificar los eventos tempranos que desencadenan los mecanismos de autoinmunidad (Choileain, 2006).

El sistema inmune normalmente muestra tolerancia hacia los propios componentes por delección clonal de células T autorreactivas, lo cual ocurre en el timo en el periodo perinatal y por la supresión funcional de células T y B autorreactivas en etapas posteriores del desarrollo. Sin embargo, bajo ciertas condiciones ocurre una alteración en el mantenimiento de la tolerancia hacia los propios componentes, lo cual determina el establecimiento de un fenómeno de autoinmunidad. La respuesta inmune, se caracteriza por la activación y expansión clonal de linfocitos autorreactivos y la producción de autoanticuerpos en contra de antígenos autólogos presentes en los tejidos propios del organismo (Kelley, 1997).

---

Una característica particular de las enfermedades autoinmunes, es la selectividad que ejercen los LT (linfocitos T) autorreactivos, sobre una célula, órgano o tejido en particular. Muchos de los linfocitos que poseen receptores reactivos para lo propio, son eliminados por un proceso controlado de inducción de tolerancia. Se ha estimado que, después del su paso por el timo, aproximadamente el 10% de los LT son reactivos contra lo propio (Opdenakker, 2005).

El proceso de inflamación inicial que se desencadena en las enfermedades autoinmunes, conduce a la activación subsecuente de linfocitos autorreactivos, y la constante repetición de este ciclo ocasiona un estado de inflamación crónica

permanente (Finch, 2004). Ejemplos de enfermedades autoinmunes, incluyen a la artritis reumatoide, diabetes mellitus insulina dependiente y LES (lupus eritematoso sistémica), que se caracterizan por inflamación crónica, destrucción de tejido y alteración de la función del órgano afectado (William, 2005). Si bien existen fuertes evidencias que asocian a la mayoría de las enfermedades autoinmunes con marcadores genéticos específicos, parece ser que la participación de las células Treg, juegan un papel importante en el desarrollo de la enfermedad (Scheffold, 2005).

Se ha determinado que la susceptibilidad a desarrollar enfermedades autoinmunes está determinada por una combinación de factores genéticos y ambientales. Diversos estudios apoyan el hecho que las infecciones microbianas desencadenan o exacerban las enfermedades autoinmunes (Bach, 2002). Se proponen dos mecanismos por los cuales los microorganismos podrían activar a los LT autoreactivos: 1) antígeno específico, lo que se explica por el mimetismo molecular (Benoist, 2001), 2) antígeno no específico, en la cual los LB al ser infectados de forma persistente por bacterias o virus, conducen a activación y proliferación policlonal (Coutelier, 1990; Yang, 1992; Sangster, 2000 y Hunziker, 2003).

Se ha propuesto que la infección crónica puede activar a LB autoreactivos de una manera significativa haciendo que se diferencien en células de memoria, que en individuos con una predisposición genética, podría armar un escenario perfecto para desencadenar el fenómeno de autoinmunidad (Soulas 2005).

## **POSIBLES MECANISMOS DE INDUCCIÓN DE ENFERMEDAD AUTOINMUNE POR AGENTES INFECCIOSOS.**

### **MIMETISMO MOLECULAR POR ANTIGENOS MICROBIANOS**

El mimetismo molecular ha sido propuesto como un mecanismo patogénico que puede desencadenar autoinmunidad. Esta hipótesis se basa en evidencias experimentales, clínicas y epidemiológicas existentes que demuestran la asociación entre un agente infeccioso y una enfermedad autoinmune. La reactividad cruzada que se desarrolla entre las estructuras químicas del microbio y las propias proteínas del huésped conducen al mimetismo molecular, que para fines prácticos se define como estructuras similares compartidas por moléculas provenientes de un origen (genes) diferente (Mcken, 1992). La respuesta inmune que se desarrolla en contra de determinantes compartidos por el huésped y el microbio, pueden provocar una respuesta inmune específica hacia un tejido, la cual es capaz de provocar destrucción celular y tisular. Entre los posibles mecanismos involucrados en la respuesta inmune hacia Ag compartidos se encuentran la generación de linfocitos citotóxicos y la producción de anticuerpos (Oldstone, 1998).

Los agentes infecciosos pueden inducir un incremento en la síntesis de citocinas Th1, desencadenando la expresión de moléculas de CMH, así como la activación y co-estimulación de moléculas tales como B7.1/CD28. Se ha reportado que ciertas bacterias sintetizan superantígenos que activan selectivamente subpoblaciones de LT actuando como activadores policlonales (Conrad, 1997 y Soos, 1997).

Aunque la infección con bacterias o virus puede ser una causa directa de artritis, se ha sugerido que la enfermedad puede ocurrir cuando los Ag extraños "mimetizan"

autoantígenos presentes en las articulaciones, por su similitud en su secuencia de aminoácidos. La respuesta inmune generada en contra del patógeno, reacciona de manera cruzada con los propios componentes lo que conduce a un fenómeno de autoinmunidad. El mimetismo molecular es posible también cuando se comparten epitopes conformacionales (Rose, 2001) En AR (artritis y reumatoide), se han descrito ejemplos relacionados con el mimetismo molecular, como es el caso de una proteína de shock-térmico de *Escherichia coli*, la dnaJ, contiene una secuencia de 5 aminoácidos que es idéntica a la molécula HLA-DRB<sub>1</sub>, la secuencia se ha asociado con susceptibilidad hacia AR. Pacientes con AR mostraron elevadas respuesta por LT en contra de dnaJ, especialmente en el líquido sinovial. Otra proteína bacteriana que contiene una región con secuencias similares a los epitopes compartidos es la hemolisina de *Proteus mirabilis*, lo que sugiere que los pacientes con AR podrían poseer títulos elevados de Ag de Proteus (Ebringer, 1992).

## INFECCIÓN BACTERIANA

Los receptores tipo toll (TLRs), son moléculas importantes para el reconocimiento de agentes patógenos con la subsecuente activación de la inmunidad innata y adaptativa en respuesta a estos patógenos. Luego de un estímulo, los TLRs activan varias protein-cinasas vía moléculas adaptadoras como MyD88, conduciendo a la activación de NFκB. La identificación de las vías de señalización TLR podrían revelar los mecanismos moleculares que inducen a la tolerancia a lo "propio" y los posibles mecanismos que desencadenarían el desarrollo de un fenómeno autoinmune.

En contraste con la inmunidad adaptativa, la inmunidad innata aparece de forma temprana durante la evolución y posee la habilidad de reconocer microorganismos patógenos. La inmunidad innata se activa de manera inmediata. Luego de contacto

con un Ag (antígeno) y controla la replicación de los microorganismos, hasta que la inmunidad adaptativa aparece. La activación de la respuesta inmune adaptativa hacia Ag propios o ambientales, puede ocasionar enfermedades autoinmunes o alérgicas. Existen evidencias que apoyan el hecho que la inmunidad innata juega un papel importante en determinar si una respuesta inmune es normal o alterada que conduzca a autoinmunidad (Toubi, 2004).

Diversos componentes bacterianos, tales como LPS, peptidoglicanos, mananos, ADN, RNA bacterianos (patrones asociados a patógenos moleculares, PAMPs) , actúan como inductores potentes de la inmunidad innata, a través de los TLRs, por lo que han sido asociados con la patogenia de enfermedades autoinmunes (Toubi, 2004; Anders<sup>1</sup>, 2005; Christensen, 2005; Anders<sup>2</sup>, 2005; Wu, 2006)

Por otro lado, se ha demostrado que los Ag micobacterianos, de estreptococos y de la flora intestinal son excelentes inductores de artritis en modelos animales.

En estudios realizados en ratones MRL/lpr que fueron inmunizados con *Nocardia brasiliensis* o *Staphylococcus aureus*, se observó que ambos grupos de ratones desarrollaron artritis; aunque los infectados con *S. aureus* desarrollaron lesiones articulares más severas como destrucción de hueso, mientras que los infectados con *Nocardia* desarrollaron como grado erosión de cartílago como grado máximo de lesión (Vázquez, 1998).

Estudios recientes han demostrado la capacidad adyuvante que poseen los lipopolisacáridos de *E. coli*, al ser inyectados intraperitonealmente en ratones DBA/1J junto con un componente del cartílago (colágena tipo II), en la inducción de artritis autoinmune. También se ha visto que otros tipos de lipopolisacáridos de *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* y *Klebsiella pneumoniae* así como el lípido A de *E.*

*coli*, causan inflamación en las articulaciones al ser inyectadas con colágena tipo II (Yoshino, 2000).

En ciertas enfermedades autoinmunes, como la AR o el síndrome de Reiter, se cree que el estímulo continuo con Ag propios, da lugar a la fase crónica de la enfermedad. Se ha reportado que la enfermedad podría ser causada por una respuesta inmune en contra de antígenos microbianos persistentes en los tejidos blanco, lo que aumenta la posibilidad de que algunos síndromes clasificados como enfermedades autoinmunes pueden tener una etiología infecciosa crónica (Behar y Porcelli, 1995)

La persistencia o el depósito de Ag microbianos es un mecanismo por el cual los organismos patógenos pueden ocasionar una enfermedad inflamatoria crónica. Un ejemplo de este mecanismo lo es la inflamación articular que en ocasiones se desarrolla luego de infecciones no articulares. La artritis postinfecciosa es una sinovitis mediada por el depósito de Ag extraños en forma de complejos inmunes; por ejemplo la artritis asociada con hepatitis B aguda (Wands, 1975), infecciones diseminadas agudas con meningococos (Jarret, 1980) o gonococos (Goldenberg, 1983). En contraste, la artritis reactiva ocurre en una subpoblación de pacientes semanas posteriores a una diarrea bacteriana aguda (Granfors, 1992) o infecciones urogenitales por *Clamydia trachomatis* (Rahman, 1992, Silveira, 1992)

Diversos estudios epidemiológicos han demostrado la correlación que existe entre la infección por ciertas bacterias y el inicio del síndrome de Reiter en individuos HLA –B27 que padecen de espondilitis anquilosante; las bacterias que han sido implicadas han sido, la *Klebsiella pneumonia*, *Shigella flexneri*, *Salmonella*, and *Yersinia enterocolytica* (Goverman, 1993). Ratas transgénicos (HLA-B27) que desarrollan artropatías espontáneas, no desarrollaron artropatías o solamente lesiones articulares menos

severas en aquellos animales que se desarrollaron en un ambiente libre de gérmenes (Taurog, 1994; Hammer, 1990). Por otro lado, otros investigadores plantearon la posibilidad que la molécula HLA-B27 se encuentren asociadas con un defecto en la capacidad de eliminar patógenos microbianos (Rath, 1996).

## **SUPERANTÍGENOS BACTERIANOS**

Algunas bacterias poseen la capacidad de sintetizar superantígenos, estos superantígenos pueden activar 1 de cada 5 linfocitos, en contraste con 1 de cada 10000 leucocitos que reaccionarían ante una proteína viral o bacteriana en particular.

Los superantígenos, se pueden definir como moléculas que aunadas a moléculas del CMH de clase II, estimulan a los LT a nivel de su porción variable de la cadena  $\beta$  (por ejemplo TCRBV<sub>5</sub>, TCRBV<sub>8</sub>) de los receptores para los Ag de dichas células (Quiros, 1996). Se ha sugerido que los superantígenos estén involucrados en la patogenia de diversas enfermedades autoinmunes (Friedman, 1991; Johnson, 1996; Soos, 1997; Krakauer, 1999) como la AR.

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

## **VIRUS**

Se sabe que los virus pueden causar inflamación en las articulaciones, como el de la rubéola, el parvovirus B19 y el arbovirus. Por otro lado también el retrovirus de la encefalomielitis-artritis, causa una enfermedad reumática crónica en las cabras; herpesvirus como el virus Epstein-Barr virus se ha asociado con una enfermedad semejante a la AR (McGuire, 1990; Kennedy-Stoskopf, 1989)

## **ARTRITIS REUMATOIDE**

La artritis reumatoide es una enfermedad inflamatoria de la membrana sinovial, la cual causa erosión, deformidad y destrucción de las articulaciones; especialmente las articulaciones pequeñas de manos y pies (Feldmann, 1996; Firestein, 2005). Predomina en las mujeres en proporción de 3:1, aparece en la edad adulta o media, aunque ha sido registrada en personas de todas las edades. Se ha estimado que la prevalencia es alrededor del 1-3% de la población. La distribución geográfica de AR es mundial, sin embargo existe una baja incidencia en África rural (Silman, 1993) y una elevada prevalencia en tribus nativas americanas (Pima y los Chippewa) (Weinblatt, 2001).

Al igual que la mayoría de las enfermedades autoinmunes, se ha pensado que la AR es causada por la interacción entre factores genéticos y ambientales. Existen diversas publicaciones que apoyan este hecho, se ha estimado, que los factores genéticos participan con un 15% y los factores no genéticos les corresponde el 85% para desencadenar la AR. Los genes HLA parecen tener relevancia en la progresión de la enfermedad (Weyand, 2000).

**Factores genéticos.-** Existe una predisposición genética a desarrollar AR, sin embargo algunos casos ocurren de forma esporádica. Ambas formas de AR se asocian con HLA-DR4, y en un menor grado con HLA-DR1 (Feldmann, 1996; Weyand, 2000).

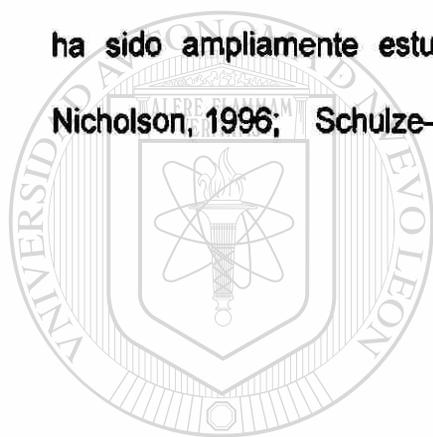
**Agentes infecciosos.-** Los agentes microbianos asociados con AR incluyen virus como el Epstein-Barr, rubéola, retrovirus, parvovirus (Wilder, 1991) y el virus de la hepatitis C (Hirohata, 1992), bacterias como micoplasma, micobacterias (Moreland, 1991) y diferentes organismos entéricos (Thompson, 1994). El peptidoglicano de la pared celular de muchas bacterias induce artritis destructiva severa crónica, semejante

a la AR, en animales de experimentación genéticamente predispuestos (Brostoff, 1994). Se ha reportado que la proteína A del *Staphylococcus aureus* de la cepa Cowan 1 es un potente estimulador de la producción de factor reumatoide (FR) en linfocitos de individuos sanos (Tar, 1985; Goldenstein, 1986). Estudios en ratones han demostrado que un factor de virulencia importante en el desarrollo de artritis séptica por *Staphylococcus aureus*, es la capacidad de la bacteria para producir superantígenos tales como la enterotoxina A-D (SEA-SED) y la toxina-1 del síndrome de shock tóxico (TSST-1) (Bremell, 1995). En 1998 se reportó que ratones MRL/lpr que habían sido infectados con *Nocardia brasiliensis* desarrollaron artritis, y que los ratones que la desarrollaron llegaron a erosión de hueso, una etapa avanzada de lesión articular (Vazquez, 1998)

**Patogenia del daño articular.-** El antígeno es presentado por fagocitos a través del CMH II a los LT CD4+, que posteriormente son activados y producen linfocinas, las cuales más tarde reclutan LT CD4+, LB, PMN y estimulan la actividad de los MØ. Al mismo tiempo, factores de crecimiento para los LB, inducen su maduración y transformación a células plasmáticas. Estas células secretan FR, los cuales a su vez forman complejos inmunes que posteriormente serán fagocitados por MØ y PMN, induciendo la activación de la enfermedad. La liberación de enzimas lisosomales y la formación de intermediarios reactivos del oxígeno tales como el anión superóxido, radicales hidroxilo y peróxido de hidrógeno, producen erosión y destrucción de cartílago y hueso. La liberación de IL-1 y TNF ocasionan daño articular por activación de condrocitos y osteoclastos y por el reclutamiento de otras células inflamatorias (Hochberg, 2003)

**Citocinas.-** Las citocinas más abundantes en la articulación cuando existen erosión de cartílago y destrucción de hueso, son las monocinas, TNF- $\alpha$ , IL-1 e IFN- $\gamma$ . La

respuesta de células T en AR ha sido clasificada como Th1, la carencia de citocinas Th2 puede contribuir a la patogenia, ya que la IL-4 e IL-13 modulan la expresión de monocinas y la producción de enzimas en el tejido sinovial *ex vivo* y pueden disminuir la inflamación del cartílago y la destrucción de hueso al ser administradas en modelos animales. Otra citocina Th1 que contribuye al desarrollo de la artritis es la IL-17, la que se ha visto participa en la degradación de cartílago y erosión de hueso (Chabaud, 1999). Se ha sugerido que la inflamación en AR está mediada por células Th1, en contraste células Th2 y sus citocinas en particular IL-4 se encuentra muy raramente, esta dicotomía en torno a las citocinas Th1/Th2 (Romagnani, 1997; Mosmann, 1996;), ha sido ampliamente estudiada (Charlton, 1995; Brennan, 1996; Kroemer, 1996; Nicholson, 1996; Schulze-Koops, 2001; Smolen, 2001).



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## **RATÓN MRL/lpr**

**Características generales.**-Una de las dificultades en definir la etiología y patogenia de la AR ha sido la falta de un modelo animal adecuado. En 1982 los ratones MRL/lpr (usados en la patogénesis de lupus) fueron reportados por desarrollar de forma espontánea linfadenopatía masiva con hipergamaglobulinemia, presencia de autoanticuerpos (Ratkay, 1991), altos niveles de proteínas de fase aguda, glomerulonefritis (Chan, 1999; Faust, 2002; Mishra, 2003; Kikawada, 2003; Reilly, 2004; Sadanaga, 2005) y una enfermedad parecida a la AR en una etapa avanzada de la vida del ratón (Andrews, 1987; Hang, 1982; O'Sullivan, 1985; Tanaka, 1987; Tarkowski, 1987; Koopman, 1988; Tanaka, 2004). Este modelo desarrollado por Murphy y Roths es afectado por una enfermedad sistémica autoinmune (Pataki, 1985) y además posee las siguientes características:

Proliferación excesiva de linfocitos T, lo cual está determinado genéticamente

Presencia de factores reumatoides de isotipos IgM e IgG

Desarrollo de poliarteritis

---

**Poliartritis clínicamente evidente de los miembros posteriores (Hang, 1982)**

En los ratones MRL/lpr, la enfermedad inicia a las 8 semanas de edad con la activación policlonal de células B y la presencia de niveles séricos elevados de IgM.

De las 12 a 16 semanas de edad los ratones empiezan a producir una variedad de autoanticuerpos entre los que se incluyen anticuerpos anti-dsDNA y anti-ssDNA. De las 16 a 24 semanas, los ratones desarrollan glomerulonefritis proliferativa mediada por complejos inmunes, vasculitis, artritis y linfadenopatía masiva lo que ocasiona daño renal y la muerte en el 50% de los ratones de 24 semanas de edad (Reilly, 2002)

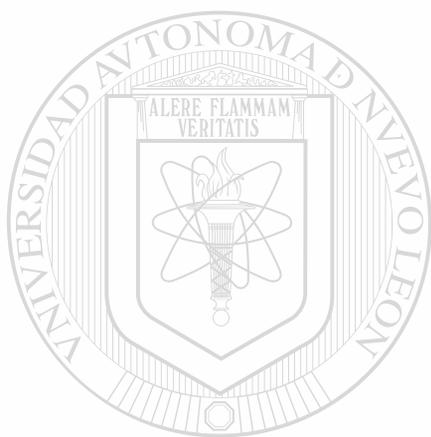
Este modelo de ratón presenta la mutación *fas<sup>lpr</sup>*, la cual es causada por la inserción de un elemento transponible en el gen Fas lo que afecta su expresión. El producto de

Fas es un receptor de superficie celular miembro de la familia de los receptores. Al presentar la mutación recesiva *lpr*, el gen *fas*, su producto no puede transmitir adecuadamente señales que conducen a muerte celular programada. Una de las consecuencias que resultan con la disminución de la expresión de Fas en el ratón MRL/*lpr* es una apoptosis defectuosa de células T maduras, lo que conduce a una acumulación acelerada de células T autoreactivas (un gran número de células T atípicas CD4, CD8 dobles negativas (DN) (Xiulong, 1997; Takahashi, 1997)

Un aspecto importante de estos ratones es que desarrollan una artritis espontánea, que puede ser activada en etapas tempranas de la vida del ratón por la inyección intradérmica de A CF (Ratkay, 1994). En ratones MRL/*lpr* que fueron infectados con *Staphylococcus aureus* o *Nocardia brasiliensis* se observó artritis en el 100% de los animales en etapas más tempranas de la vida del ratón, comparado con la aparición de la enfermedad en forma espontánea, y en el 44% de ellos la enfermedad evolucionó hasta la fase de erosión de hueso; cuando los ratones fueron infectados con *Nocardia brasiliensis* también se generó artritis temprana en el 100% de los animales aunque el 10% de estos, desarrollo erosión de hueso (Vázquez, 1998).

**Exámen histopatológico de las articulaciones.-** Las articulaciones del tren posterior de ratones MRL/*lpr* hembras desarrollan lesión articular semejante a la desarrollada por el humano. El exámen histopatológico de las articulaciones demuestra proliferación de células sinoviales, formación de pannus; erosión cartílago articular adyacente a las células sinoviales proliferantes y a los 6-7 meses de edad hubo destrucción del cartílago del menisco, formación de fibrocartilago y destrucción de hueso subcondral en cierta proporción de animales. También se encontraron infiltrados de linfocitos T y B en el tejido sinovial de los ratones afectados.

**Citocinas y anticuerpos.-** Takahashi encontró que los ratones MRL/lpr producían de forma espontánea niveles significativos de IgG2a e IgG3 en contraste con los niveles obtenidos de IgG1, así como la producción significativa de IFN- $\gamma$  (esto asociado a una respuesta de tipo Th1 en el ratón), los que llevo a pensar que este ratón presenta una alteración en la respuesta inmune, mostrando un desbalance y predominancia de la respuesta inmune Th1 (Takahashi, 1996). Por otro lado, en este mismo año, Lemay analizó la expresión de los genes para una variedad de citocinas en el ratón MRL/lpr y encontró una sobre expresión de los genes para IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  (Lemay, 1996)



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## PARÁSITOS, INMUNOREGULACIÓN Y RESPUESTA Th2

Los helmintos son un grupo de organismos multicelulares que afectan a los humanos y son una causa principal de enfermedades. Existen diversos modelos en ratones, que representan el espectro de las enfermedades infecciosas, y han sido útiles en analizar y caracterizar la respuesta inmune del huésped en respuesta hacia diversos helmintos (Gause, 2003)

La regulación de la respuesta inmune por parásitos incluye, supresión, conversión de la respuesta inmune en beneficio del patógeno. Mientras muchos microparásitos escapan del ataque inmunológico por variación antigénica o por secuestro en nichos especializados del organismo, los helmintos se exponen en los linfáticos, en la sangre o en el tracto gastrointestinal. Eventos clave entre la respuesta del parásito y el huésped es la inducción de una respuesta Th2, la activación de MØ y de CD; además de la participación de células, particularmente eosinófilos y células cebadas. La suma de todos estos efectos conduce al huésped a crear un efecto anti-inflamatorio el cual es favorable para la supervivencia del parásito (Maizels, 2004). Incluso se ha

establecido una posible relación entre la desparasitación y surgimiento de enfermedades inmunológicas inflamatorias crónicas; este fenómeno se asocia con lo propuesto en la "hipótesis de la higiene", en la cual se sugiere que la falta de exposición a helmintos, incrementa el riesgo para adquirir algunas enfermedades autoinmunes que se caracterizan por inflamación crónica (Elliot, 2000; Weinstock, 2002; Yazdanbakhsh, 2002; Dunne, 2005). Se ha establecido que la infección con helmintos, que induce inflamación tipo -Th2, regula negativamente la respuesta Th1 hacia infecciones por parásitos bacterias y virus no relacionados (Kullberg, 1992; Actor, 1993; Sabin, 1996). Por ejemplo, se ha reportado la ausencia de AR en poblaciones rurales de Nigeria, para lo cual, se ha dado como posible explicación la

elevada prevalencia de infecciones y enfermedades parasitarias endémicas en estas áreas (Silman, 1993).

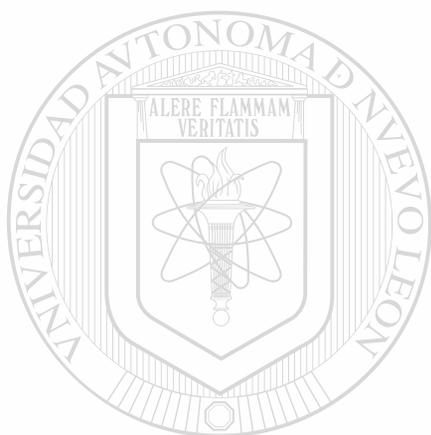
Las enfermedades infecciosas y particularmente las infecciones con helmintos que son endémicas en África, podrían tener efectos profundos en el sistema inmune del huésped (Bentwich, 1996). como el regular la aparición de enfermedades inflamatorias crónicas como la AR.

Elliott y colaboradores han propuesto la " hipótesis de la higiene", según la cual las condiciones de sanidad que prevalecen en los países industrializados, han ocasionando la generación de ambientes más higiénicos, favoreciendo de esta manera un menor contacto con helmintos. Esta ausencia de infección con helmintos se ha asociado con un incremento en la aparición de enfermedades inflamatorias como la enfermedad de Crohn (Elliott, 2000).

Estudios en humanos y modelos animales han utilizado parásitos o sus productos como inmunoreguladores de la respuesta inflamatoria (tabla I), especialmente aplicados a enfermedades autoinmunes (Kullberg, 1992; Vella, 1992; Elliott, 2003;

Summers, 2003; Elliot, 2004; Hunter, 2004; Elliot, 2005; Dunne, 2005 y Summers, 2005). Un producto de la filaria *Acanthocheilonema viteae*, la glicoproteína ES-62, ha probado ser útil como molécula inmunoreguladora, anti-inflamatoria en el tratamiento de artritis inducida en ratones; los estudios sobre infección con filarias ha mostrado que pueden modular la respuesta inmune hacia Ag heterólogos, y la capacidad de poder polarizar una respuesta Th1 a Th2 (McInnes, 2003; Goodridge, 2004 y Harnett, 2004). Por otro lado, Mattson demostró que la artritis que desarrollan las ratas DA inoculadas con colágena bovina, fue suprimida cuando fueron infectadas con *Trypanosoma brucei* (Mattson, 2000). Existen evidencias que la infección con los helmintos *Heligmosomoides polygyrus* y *Nippostrongylus brasiliensis*, estimulan una

respuesta por células T, específicamente Th2; la respuesta por citocinas se caracteriza por la producción de IL-4, IL-5, IL-3 y en baja concentración IFN- $\gamma$  (Street, 1990; Svetic 1992). A lo largo de más de una década diversos investigadores han comprobado que los helmintos desencadenan una respuesta Th2 con una producción elevada de IL-4,



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Tabla I. Parásitos empleados en el  
tratamiento de enfermedades autoinmunes**

<b>Agente o producto</b>	<b>Enfermedad Autoinmune</b>
<i>Schistosoma mansoni</i>	DMT1, EAE y tiroiditis de Graves
Huevecillos de <i>S. mansoni</i>	DMT1, EAE, y colitis experimental
Productos solubles de <i>S. mansoni</i>	DMT1
<i>Hymenolepis diminuta</i>	Colitis experimental
<i>Acanthocheilonema viteae</i> (ES-62)	AIC
<i>Trichuris suis</i>	Enfermedad de Crohn's
<i>Heligmosomoides polygyrus</i>	Enfermedad intestinal inflamatoria
<i>Trichinella spiralis</i>	Colitis experimental
<i>Tripanosoma brucei</i>	AIC
<i>Streptococcus sanguinis</i>	AIC

esto ha permitido que en la investigación con helmintos continúe con el objeto de dilucidar los mecanismos moleculares mediante los cuales estos parásitos ejercen un efecto modulador (Urban, 1992; Urban, 1996; Finkelman, 1997, Ishikawa, 1998; Urban, 1998; Holland, 2000; Yazdanbakhsh, 2002; Zhao, 2003, Finkelman, 2004; Liu, 2004; Maizels, 2004 y Min, 2004, Weinstock, 2005).

### **Nemátodos, parásitos intestinales**

La infección con nemátodos intestinales se ha asociado con respuestas características de una respuesta tipo Th2. Dos parásitos nemátodos intestinales que pertenecen a la superfamilia *Trichostrongyloidea*, *Heligmosomoide polygyrus* y *Nippostrongylus brasiliensis*, han sido ampliamente utilizados para estudiar infecciones por parásitos intestinales; la infección con estos helmintos desencadena una fuerte respuesta inmune Th2, que se manifiesta con niveles elevados de IL-4 e IL-13, eosinofilia, mastocitosis y concentraciones elevadas de IgE e IgG1 en suero (Finkelman, 1997).

La infección por *Nippostrongylus brasiliensis* se elimina en aproximadamente 2 semanas luego de la inoculación, mientras que la inoculación primaria con *Heligmosomoides polygyrus* conduce a una infección crónica. En el modelo murino, la infección con *Nippostrongylus brasiliensis*, se inicia con la inoculación subcutánea del helminto en estadio L3 bajo la piel, el sitio de la infección natural (Anderson, 2000). Esta infección y patrón de migración es similar al de varios parásitos intestinales tales como el *Ancylostoma duodenale* y el *Necator americanus*.

Recientemente se ha mostrado que *Nippostrongylus brasiliensis*, desencadena una fuerte respuesta polarizada hacia Th2 en los ganglios linfáticos cervicales luego de la inyección intracutánea en la oreja, demostrando que es el parásito y no el ambiente de la mucosa es el responsable de una respuesta Th2 (Liu, 2002). La infección con

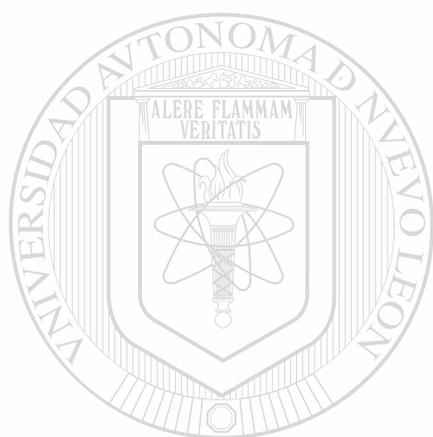
*Heligmosomoides polygyrus* es estrictamente entérica y ocurre después de la ingestión de la larva en estadio infectivos (L3) del suelo. De forma experimental, las larvas L3 son inoculadas vía oral y se transportan hacia la mucosa gástrica del estómago en ~ 4 horas. La magnitud y efectividad de la respuesta varía según la cepa de ratón, sin embargo parece ser que la respuesta permanece polarizada hacia una respuesta Th2 (Gause, 1997). Estudios recientes han mostrado que LT específicos para Ag no parasitarios, pueden producir IL-4 *in vivo*, cuando ratones receptores son inmunizados con el Ag y *Nippostrongylus brasiliensis*, pero no con el Ag o el parásito de manera independiente (Liu, 2002). Estos hallazgos demuestran que el parásito actúa como un adyuvante microbiano -Th2. La diferenciación de LT en células productoras de IL-4, es un paso importante en el desarrollo de una respuesta protectora para el huésped. La IL-4 actúa como mediadora de los mecanismos que participan en la eliminación del parásito, y la cual es requerida para la amplificación de la respuesta por células Th2, que también producen IL-5, IL-9 e IL-13; *in vivo*, la IL-10 no se eleva en la infección por *Heligmosomoides polygyrus* y solo se eleva ligeramente en la respuesta contra *Nippostrongylus brasiliensis* (Svetic, 1993; Finkelman, 1994). En enfermedades infecciosas, la respuesta Th2, generalmente dependen de señales coestimuladoras B7-1 - B7-2; su bloqueo durante la respuesta inmune primara contra *Heligmosomoides polygyrus*, inhibe el desarrollo de la respuesta Th2. Otra moléculas co-estimuladoras como ICOS, el ligando CD40 (CD40L) y OX40 han sido implicadas en el desarrollo de una respuesta Th2. Una respuesta Th2 efectiva, requiere de las interacciones OX40L - B7-1 - B7-2 - CD28, durante la infección por *Heligmosomoides polygyrus*, pero no para el caso de *Nippostrongylus brasiliensis* sugiriendo que este se caracteriza por inducir una respuesta Th2 y y LT productores de IL-4, en ausencia de moléculas co-estimuladoras (Gause, 2003).

## **Inmunidad protectora.**

Las células Th2 actúan como mediadoras de la inmunidad protectora en contra de nemátodos intestinales mediante la producción de IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13. La IL-4 e IL-13 pueden unirse a receptores tipo-2, expresados por diversos tipos celulares no linfoides en la región entérica. Lo anterior conduce a un incremento en la permeabilidad de las células epiteliales de la mucosa, una disminución en la absorción de glucosa dependiente de sodio, y un incremento en la contracción del músculo liso, lo que podría contribuir a un microambiente hostil para el parásito, lo cual conduciría a la expulsión de los gusanos viables adultos (Shea-Donohue, 2001). La IL-5 e IL-9 también son importantes en mediar la protección de huésped en contra de los helmintos, pero parece funcionar de manera aditiva. De manera interesante, la defensa del huésped infectado por *Nippostrongylus brasiliensis*, esta mediada por IL-13 en ausencia de IL-4, sugiriendo que la respuesta Th2 puede desarrollarse en ausencia de IL-4 (Urban, 1998). La producción de intermediarios reactivos del oxígeno (IRO) que dañan al parásito y cambian el ambiente de la mucosa, facilitan el atrapamiento del parásito y contribuyen a la eliminación del mismo (Finkelman 1997). El TNF- $\alpha$ , podría jugar un papel importante en acelerar la expulsión del parásito, a través de su acción en las células del intestino o mediante la activación de la respuesta Th2 (Artis, 1999).

Se ha demostrado que la infección con helmintos o sus productos, puede tener efectos anti-inflamatorios, como ya se ha reportado para una gran variedad de productos de los helmintos (tabla 1) o los helmintos mismos, aplicados en modelos animales (Dunne, 2005) y en los humanos. (Elliott, 2005). El ambiente generado por los helmintos al invadir a un huésped, inducen mecanismos reguladores de la respuesta inflamatoria como la participación de LT reguladores (Treg) y la síntesis

de IIL-10 (Doetze,2000), condiciones que favorecen el desarrollo de un ambiente anti-inflamatoriro. Por lo que resulta de gran interés investigar el efecto de la infección con helmintos en un modelo animal predispuesto a desarrollar artritis.



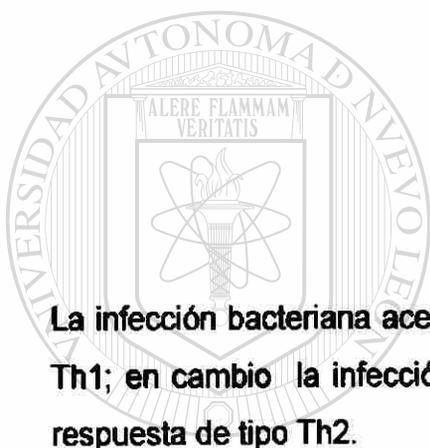
# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



## HIPÓTESIS

**La infección bacteriana acelera la artritis en el ratón MRL/lpr al inducir una respuesta Th1; en cambio la infección por helmintos disminuye dicho proceso al estimular una respuesta de tipo Th2.**

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## OBJETIVO

### OBJETIVO GENERAL

Demostrar que la infección bacteriana y por helmintos, modifica el patrón de citocinas Th1/Th2 y con ello la evolución de la artritis en el ratón MRL/lpr

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la producción de anticuerpos IgG1 (Th2) e IgG2a (Th1), en ratones MRL/lpr infectados con los helmintos (*Heligmosomoides polygyrus* o *Nippostrongylus brasiliensis*) y las bacterias (*Staphylococcus aureus* o *Nocardia brasiliensis*).
2. Evaluar el predominio de la respuesta Th1 o Th2 en base a la producción de IFN- $\gamma$  (Th1) e IL-4 (Th2) en ratones MRL/lpr Infectados con los helmintos o bacterias en estudio
3. Determinar el daño histopatológico en tejido articular de ratones MRL/lpr infectados con los helmintos o bacterias en estudio
4. Evaluar el predominio de la respuesta Th1 o Th2, en base a la producción de IFN- $\gamma$  (Th1) e IL-4 (Th2) y de anticuerpos IgG1 (Th2) e IgG2a (Th1), así como su relación con el agente infeccioso y la evolución de la artritis en el modelo MRL/lpr

## MATERIAL Y MÉTODOS

### 1. ANIMALES DE LABORATORIO

Se utilizaron ratones hembras de 12 semanas de edad de la cepa MRL/lpr y ratones hembras y machos de 12 semanas de edad de la cepa BALB/c; ambas cepas procedentes de Laboratorios Jackson (Jackson Laboratorios Me. USA). Los ratones se alimentaron con nutricubos (Purina México) y agua destilada estéril *ad libitum*. Los ratones se mantuvieron en el bioterio del Departamento de Inmunología de la Facultad de Medicina, UANL.

### 2. ANTÍGENOS

2.1 Proteína A soluble de *Staphylococcus aureus*, cepa Cowan (Sigma)

### 3. HELMINTOS

3.1 *Heligmosomoides polygyrus*\*

3.2 *Nippostrongylus brasiliensis*\*

\* Helmintos donados por el Dr. Joe Urban del Dpto de Agricultura, Beltsville, Maryland.

### 4. MICROORGANISMOS

4.1 *Nocardia brasiliensis*, HUJEG-1, ATCC 700358

4.2 *Staphylococcus aureus*, ATCC 12598

## 5. PREPARACION DE LOS CULTIVOS BACTERIANOS

**5.1 *Nocardia brasiliensis*.** A partir de un cultivo puro de *Nocardia brasiliensis* en agar dextrosa-Sabouraud se inoculó una asada en matraces Erlenmeyer de 125 ml con 30 ml de infusión cerebro corazón (BHI) y se incubó a 37°C durante 72 horas. Los cultivos se transfirieron a tubos de 50 ml y se centrifugaron a 2500 rpm durante 10 minutos (centrifuga Beckman TJ-6) para recuperar la masa bacteriana, la cual se lavó con solución salina estéril 2 veces más. Las bacterias se disgregaron con un homogenizador de vidrio (Potter-Evelhem) y se resuspendieron en solución salina estéril, se dejaron sedimentar y del sobrenadante se tomó una muestra, lo cual representa la suspensión unicelular bacteriana a partir de la cual se realizaron diluciones 1:50, 1:100, 1:150 y 1:200. Se tomó lectura de la densidad óptica de cada dilución a 325 nm y los datos se extrapolaron con una curva estándar. De esta manera se preparó el inóculo para infectar al grupo de ratones MRL/lpr correspondiente.

**5.2 *Staphylococcus aureus*.** De un cultivo puro se transfirió una asada a un medio de agar sangre por aislamiento de estría y se incubó a 37°C por 24 h. De este cultivo primario se realizó un pase a BHI y se incubó a 37°C por 18 h, a partir de este cultivo se realizaron diluciones de  $10^{-1}$  a  $10^{-7}$ , de las cuales se transfirió 1 ml de cada dilución respectivamente a placas de Petri. Posteriormente se adicionaron 30 ml de agar licuado y enfriado, a cada dilución y se incubaron a 37°C durante 24 h. Se contó el número de UFC en las placas donde hubo un número mayor de 30 y menor de 300. De esta forma se realizó el ajuste correspondiente para preparar el inóculo necesario para infectar al grupo de ratones MRL/lpr.

## 6. PREPARACIÓN DE LOS CULTIVOS DE HELMINTOS

**6.1 *Heligmosomoides polygyrus* y *Nippostrongylus brasiliensis*.** Se mezcló en partes iguales, tierra para jardín (peat moss) y carbón activado (Sigma C-2764) adicionado con heces (homogenizadas con agua, 0.5 g heces/ml agua) de ratones previamente infectados con el parásito. Esta mezcla se colocó en una cámara húmeda, para lo cual se emplearon placas de Petri estériles adicionadas de una papel filtro humedecido en agua estéril. La recolección de larvas de los parásitos a partir de los cultivos se realizó mediante la técnica modificada de Baerman, posteriormente se realizó el conteo de larvas con un estereoscopio y se ajustaron a 200 larvas de *Heligmosomoides polygyrus* L<sub>3</sub> y 500 larvas de *Nippostrongylus brasiliensis* L<sub>3</sub> respectivamente en 0.1 ml de solución salina estéril.

**6.2 *Nippostrongylus brasiliensis*.** El procedimiento para la obtención de larvas de *Nippostrongylus brasiliensis* fue semejante al realizado para *Heligmosomoides polygyrus*, sin embargo el conteo de larvas en este caso particular fue de 500 larvas en estadio L<sub>3</sub>/0.1 ml de solución salina estéril.

---

## 7. OBTENCIÓN DE ANTIGENOS

**7.1 Obtención del extracto celular crudo de *Nocardia brasiliensis*.** Se inocularon 400 µl de la suspensión unicelular de *Nocardia brasiliensis* (ver antes) a matraces Erlenmeyer de un litro, con 160 ml de BHI y se incubó a 37°C por 7 días. Posteriormente se realizó la cosecha de la biomasa en un embudo Buchner sobre papel filtro previamente pesado y esterilizado; se realizaron lavados con agua destilada estéril (40°). Se procedió a deslipidizar la biomasa suspendiéndola en una mezcla de solventes etanol-éter etílico 1:1, posteriormente 1:2 y finalmente 1:3. La mezcla de solventes se agregó respectivamente a la biomasa hasta que el respectivo

extracto resultó incoloro. La biomasa se dejó secar durante 18 horas en la campana de extracción, en un cristalizador cubierto con un plástico perforado. La biomasa seca se trituró y pulverizó en un mortero estéril junto con un volumen igual de polvo de vidrio estéril durante 90 minutos. La biomasa fue mezclada en un matraz Erlenmeyer de 250 ml con amortiguador de extracción Tris-HCl 0.1M/Acetato de magnesio 0.1 M pH 7.4 en una relación de 15 ml de amortiguador por cada gramo de peso seco y se dejó en agitación a 4° C durante 18 horas. Posteriormente se centrifugó en tubos cónicos de 50 ml a 3500 rpm durante 30 minutos (centrifuga Beckman TJ-6), se recuperaron los sobrenadantes (extractos) y los sólidos fueron sometidos nuevamente al mismo proceso de extracción. Los extractos fueron centrifugados a 14000 rpm durante 30 minutos a 4° C. El extracto fue dializado (membrana Sigma 250-90, 12-14 Kd) contra agua por 18 horas a 4° C. Del extracto dializado se tomó una alícuota de 1 ml y se realizó la determinación de la concentración de proteínas por el método de Bradford, el resto del extracto dializado fue colocado en viales de vidrio con 15 ml cada uno y posteriormente se liofilizó (Freeze Mobile 12 VirTis, Gardiner NY). Una vez liofilizadas las muestras se conservaron a 4° C. Se ajustó la concentración del extracto crudo de *Nocardia brasiliensis* a 0.5 mg de proteína para cada pozo de la placa de ELISA.

**7.2 Obtención de la proteína A soluble de *Staphylococcus aureus*.** La proteína A de *Staphylococcus aureus* cepa Cowan fue adquirida de la casa comercial especificada (Sigma). Esta proteína se utilizó para la determinación de Ac IgG1 e IgG2a en el suero de ratones infectados con *Staphylococcus aureus*, mediante un ensayo de ELISA. La proteína A fue preparada en amortiguador de acetatos a una concentración de 0.05 µg por pozo de la placa.

**7.3 Obtención de los antígeno de excreción-secreción de *Heligmosomoides polygyrus* (HES) y *Nocardia brasiliensis* (NES).** El antígeno HES fue preparado de gusanos adultos obtenidos 7 días después de inocular 200 larvas L<sub>3</sub> en ratones BALB/c; mientras que el antígeno NES fue preparado de gusanos adultos obtenidos 10 días después de inocular 500 larvas L<sub>3</sub> en ratones BALB/c. Los ratones fueron sacrificados y los gusanos adultos se obtuvieron del intestino según el método de Baerman; la cosecha de los gusanos adultos se realizó colocando los intestinos de los ratones en solución salina estéril sobre una gasa colocada en un embudo de vidrio adicionado de una manguera obstruida con pinzas de disección, lo cual permitió cosechar en un lapso de 2 horas los gusanos adultos al final de la manguera. Los gusanos recolectados fueron lavados 5 veces con solución salina estéril a 37 °C y 5 veces más con RPMI 1640 (Sigma), finalmente fueron resuspendidos en RPMI 1640 adicionado de gentamicina 50 mg/ml (250 µl/500 ml RPMI, Quality Biological 120-098-030) y antibiótico-antimicótico (5 ml/500 ml RPMI, Gibco 15240-062), e incubados por 7 días a 37 °C y 5% CO<sub>2</sub> en placas de cultivo de 24 pozos (Costar, 3424) conteniendo 100-200 gusanos por pozo/ml. El medio de cultivo fue colectado, reemplazado cada tercer día, filtrado a través de filtro de 0.2 µm (Millipore)<sup>®</sup> y almacenado a -20 °C. El antígeno HES fue preparado a partir de 500 ml de medio de cultivo obtenido de del cultivo de los parásitos, por concentrarlo de 50 – 100 veces con Amicón utilizando una membrana con límite de corte de 10 kDa. La concentración de proteínas fue determinada por el método de Bradford. Alícuotas del antígeno HES y NES fueron almacenadas a -70 °C hasta su uso. Se ajustó la concentración del antígeno HES y NES en amortiguador salina fosfatos a 0.25 µg de proteína respectivamente para cada helminto por cada pozo de la placa de ELISA.

## **8. DETERMINACION DE PROTEINAS POR EL METODO DE BRADFORD**

A partir de un estándar de albúmina sérica bovina (Sigma) de concentración 1 mg/ml de agua bidestilada, se realizó una dilución 1:50 (100 µl de ASB + 4.9 ml de agua destilada) y a partir de esta se prepararon diferentes concentraciones desde 2 a 18 µg/ml. A cada estándar se le adicionó un volumen igual de reactivo de Bradford. Se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente y posteriormente cada muestra fue leída en un espectrofotómetro (Beckman DU 7500) a 595 nm. Con las lecturas obtenidas de los estándares se realizó una curva estándar de calibración graficando los resultados de absorbancia en contra de la concentración correspondiente. Las muestras problema (Extracto crudo de *Nocardia brasiliensis*, HES y NES) fueron diluidas 1:10, 1:100 y 1:1000. De estas se tomó un volumen de 500 µl a las cuales se adicionó igual volumen de reactivo de Bradford y se determinó la absorbancia de la muestra a 595 nm. La lectura obtenida para cada muestra se interpoló con la curva de calibración y de esta manera se obtuvo la concentración de proteínas presentes en la muestra (Bradford, 1976)

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

## **9. ANÁLISIS DEL PATRÓN ELECTROFORÉTICO DEL EXTRACTO CELULAR<sup>®</sup> CRUDO DE *N. brasiliensis*, HES y NES EN SDS-PAGE 8-18%.**

**9.1 Análisis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE) 8-18%.** Para realizar el análisis proteico del extracto celular crudo (EC) de *Nocardia brasiliensis*, del extracto de HES y NES, se realizó mediante un procedimiento de electroforesis en gel de poliacrilamida adicionado de dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE). La electroforesis se llevó a cabo en geles de poliacrilamida de acuerdo al sistema discontinuo de Laemmli (Laemmli, 1970) con las siguientes variantes, se utilizó un gel concentrador al 5% T, (2.7% C) y un gel de separación en gradiente 10-18% T,

(2.7% C). Para la realización del gel se utilizó un equipo de electroforesis mini-Protean II (BIO RAD) con ayuda de un formador de gradiente (BIO RAD modelo 385). Los gels se pre-corrieron a 50 volts por espacio de 20 minutos (fuente de poder BIO RAD modelo 1000/500), el amortiguador de corrimiento utilizado fue el de Glicina 192mM, Trizma base 25mM, SDS 0.1% p/v con un pH 8.3 (Sigma).

Las muestras del E.C. de *N. brasiliensis* se separaron electroforeticamente (PAGE-SDS) y la concentración proteica que se utilizó fue de 25µg de

proteína/30µl/carril. La muestra problema se mezcló con el buffer de muestra 4X en una proporción de 3:1 conteniendo Tris-HCL 0.125M pH 6.8, 2% de dodecil-sulfato de sodio (SDS) y 5% de 2-mercaptoetanol (2ME), 10% de sacarosa y azul de bromofenol.

Los volúmenes de las muestras fueron de 40µl y se sometieron a ebullición 2 min antes de ser colocadas en los carriles del gel concentrador. Los marcadores de peso molecular que se utilizaron se reconstituyeron de acuerdo al instructivo [(albúmina sérica bovina (PM 66,000), albúmina de huevo (PM 45,000), gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa (PM 36,000), anhidrasa carbónica (PM 29,000), tripsinógeno (PM

24,000) y lactoalbúmina (PM 14,000)]. Los marcadores se sometieron a ebullición 1 minuto y después se colocaron al igual que las muestras en los carriles del gel concentrador. Después el gel se colocó dentro de la cámara de electroforesis el cual contenía el amortiguador de corrimiento (Tris-HCL y Glicina). La electroforesis se realizó a 80 volts durante 1 hora y luego el voltaje se aumentó a 150 volts por 3.5 horas.

**9.2. Tinción de Coomassie.** Al término de la electroforesis, el gel se tiñó con una solución de tinción azul de Coomassie R (Sigma) al 0.1% p/v en metanol, 40% v/v, ácido acético, 10% v/v), durante 30 minutos en movimiento suave y después se destiñó

utilizando una solución de metanol 40%, ácido acético 10%v/v, en cantidad suficiente para eliminar el exceso del colorante.

### 9.3 Tinción con nitrato de plata.

Al término de la electroforesis, el gel se sumergió en una solución fijadora (metanol 50% v/v, ácido acético glacial 12% v/v) durante 20 minutos. Después se hicieron 3 lavados de 10 minutos cada uno, con una sol. de lavado (etanol 10% v/v, ácido acético glacial 5% v/v). Luego se colocó el gel en una solución oxidante (dicromato de potasio 3.4 mM, ácido nítrico 3.22 mM) por 5 min y el gel se lavó con agua destilada, 3 veces de 10 min cada uno. Posteriormente el gel se sumergió en una solución de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$  12mM en agua) inicialmente durante 5 min. Y finalmente para observar las bandas proteicas se utilizó una solución de revelado (carbonato de sodio 2% y formol) y la reacción se detuvo con ácido clorhídrico 1 N.

## 10. TRATAMIENTO DE LOS GRUPOS DE RATONES MRL/lpr

**10.1 Grupo control.** Diez ratones sin ningún tratamiento, fueron observados durante 6 semanas y posteriormente se sacrificaron por dislocación cervical. Se tomaron muestras de sangre del plexo retro orbital a los 0, 21 y 42 días posteriores al inicio de estudio.

**10.2 Grupo de ratones infectados con *Staphylococcus aureus* o *Nocardia brasiliensis*.** Un grupo de diez y once ratones MRL/lpr respectivamente, de 12 semanas, fueron inyectados subcutáneamente en el dorso con  $5 \times 10^6$  UFC/50  $\mu\text{l}$  de *Staphylococcus aureus* o  $4 \times 10^7$  UFC/50  $\mu\text{l}$  de *Nocardia brasiliensis* respectivamente. Los animales inoculados fueron observados durante 6 semanas y

posteriormente se sacrificaron por dislocación cervical. Se tomaron muestras de sangre del plexo retro orbital a los 0, 21 y 42 días posteriores a la infección.

**10.3 Grupo de ratones infectados con *Nippostrongylus brasiliensis* y *Heligmosomoides polygyrus*.** Un grupo de diez ratones MRL/lpr, fueron infectados por vía entérica con 200 larvas de *Heligmosomoides polygyrus* y por vía subcutánea dorsal con 500 larvas de *Nippostrongylus brasiliensis* respectivamente. Los animales inoculados se observaron durante 6 semanas y posteriormente se sacrificaron por dislocación cervical. Se tomaron muestras de sangre del plexo retro orbital a los 0, 21 y 42 días posteriores a la infección.

**10.4 Grupo de ratones inmunizados con ACF.** El ACF acelera la artritis que desarrolla el ratón MRL/lpr, (Ratkay, 1993) por lo que a manera de un control de la enfermedad, un grupo de 10 ratones se inocularon con 0.05 ml de ACF (modificado, con 10 mg/ml de *Mycobacterium tuberculosis* H 37 Ra inactivadas con calor (Difco, Detroit, Mi), y se preparó como una emulsión aceite en agua) por vía intradérmica en 2 sitios taráxicos, con aguja de 29 X 13 mms. Los animales tratados se observaron durante 6 semanas y posteriormente se sacrificaron por dislocación cervical. Se tomaron muestras de sangre del plexo retro orbital a los 0, 21 y 42 días posteriores a la inmunización.

## **11. DETERMINACION DE ANTICUERPOS SÉRICOS**

**11.1 Determinación de anticuerpos IgG anti-*Nocardia brasiliensis*.** Se realizó la estandarización de la técnica de ELISA para la determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a específicos para *Nocardia brasiliensis* (Tabla II).

ELISA para extracto crudo de *Nocardia brasiliensis*.- Se colocaron 0.5 µg del antígeno del extracto crudo de *Nocardia brasiliensis* en 200 µl de amortiguador de

acetatos pH 5 por cada pozo de placas de poliestireno (placas con pozos fondo plano de 300 µl de capacidad, Costar 3590), se cubrió la placa e incubó toda la noche a 4°C. Al siguiente día se eliminó el contenido de los pozos por decantación y se realizaron 5 lavados con 200 µl PBS-tween 20 1:000 a temperatura ambiente. Posteriormente la placa fue bloqueada con 200 µl/pozo de solución bloqueadora (leche descremada Difco al 5% en PBS) y se incubó a 37°C por 2 horas. Enseguida se realizaron 5 lavados con PBS-Tween 20 1:1000 a temperatura ambiente. Se adicionó a cada pozo 50 µl de suero de ratón diluído 1:100 con leche descremada al 5% en PBS Tween 20 1:1000 y se incubó a 37°C durante 1 hora, posteriormente se realizaron 5 lavados con PBS-tween 20 1:1000. Se agregó a cada pozo 100 µl de antisuero (anti-IgG1 o IgG2a de ratón, SouthernBiotech) conjugado a peroxidasa y diluído 1:10000 en leche descremada al 1% en PBS Tween 20 1:1000, se incubó a 37°C por 1 hora y se realizaron 5 lavados. La reacción se reveló con 80 µl de solución cromógeno-substrato (OPD, peroxidase substrate, Sigma P-9187) por pozo, incubando por 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. La reacción se detuvo con 40 µl de ácido sulfúrico IN. El resultado se obtuvo registrando la absorbancia a 492 nm (SUNRISE TECAN Microassay Reader). Como sueros control negativo se utilizaron sueros de ratones MRL/lpr de 4 semanas de edad y como suero control positivo, el suero de ratones infectados y re infectados a los 15 días con *Nocardia brasiliensis* 4 X 10<sup>7</sup>/50 µl UFC por vía subcutánea dorsal y sangrados 7 días posteriores a la reinfección.

**11.2 Determinación de anticuerpos IgG anti-*Staphylococcus aureus*.** Se realizó la estandarización de la técnica de ELISA para la determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a específicos para *Staphylococcus aureus*.

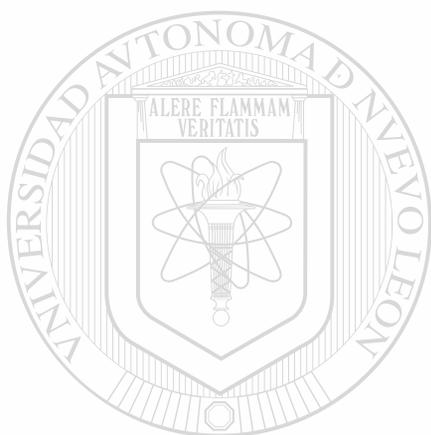
ELISA para Proteína A de *Staphylococcus aureus*. Se colocaron 0.05 µg de proteína A de *Staphylococcus aureus* cepa Cowan I (Sigma) en 200 µl de amortiguador de acetatos pH 5 por cada pozo de placas de poliestireno (placas con pozos fondo plano de 300 µl de capacidad, Costar 3590), se cubrió la placa e incubó toda la noche a 4°C. Al siguiente día se eliminó el contenido de los pozos por decantación y se realizaron 5 lavados con 200 µl PBS-tween 20 1:1000 a temperatura ambiente. Posteriormente la placa fue bloqueada con 200 µl/pozo de solución bloqueadora (leche descremada Difco al 5% en PBS) y se incubó a 37°C por 2 horas. Enseguida se realizaron 5 lavados con PBS-Tween 20 1:1000 a temperatura ambiente. Se adicionó a cada pozo 100 µl de suero de ratón diluido 1:2500 con leche descremada al 5% en PBS Tween 20 1:1000 y se incubó a 37°C durante 1 hora, posteriormente se realizaron 5 lavados con PBS-tween 20 1:1000. Se agregó a cada pozo 100 µl de antisuero (anti-IgG1 e IgG2a de ratón, SouthernBiotech) conjugado a peroxidasa y diluido 1:10000 en leche descremada al 1% en PBS Tween 20 1:1000, se incubó a 37°C por 1 hora y se realizaron 5 lavados. La reacción se reveló con 100 µl de solución cromógeno-substrato (OPD, peroxidase substrate, Sigma P-9187) por pozo, incubando por 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. La reacción se detuvo por adicionar 40 µl de ácido sulfúrico IN. El resultado se obtuvo registrando la absorbancia a 492 nm (SUNRISE TECAN Microassay Reader). Como sueros control negativo se utilizaron sueros de ratones MRL/lpr de 4 semanas de edad y como suero control positivo, el suero de ratones infectados y re infectados a los 15 días con *Staphylococcus aureus* (ATCC 12598) 5 X 10<sup>6</sup>/50 µl UFC por vía subcutánea dorsal y sangrados 7 días posteriores a la reinfección.

**11.3 Determinación de anticuerpos IgG anti-*Heligmosomoides polygyrus* y anti-*Nippostrongylus brasiliensis*.** Se realizó la estandarización de la técnica de ELISA para la determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2 específicos para ambos helmintos . ELISA para antígenos HES y NES respectivamente. Se colocaron 0.25 µg del antígeno HES o NES, en 50 µl de amortiguador de fosfatos pH 7.4 por cada pozo de placas immulon 4 (placas con pozos fondo plano de 300 µl de capacidad, Dynatechn), se cubrió la placa e incubó toda la noche a 4°C. Al siguiente día se eliminó el contenido de los pozos por decantación y se realizaron 5 lavados con 200 µl PBS-tween 20 1:1000 a temperatura ambiente. Posteriormente la placa fue bloqueada con 100 µl/pozo de solución bloqueadora (leche descremada Difco al 10 % en PBS) y se incubó a 37°C por 2 horas. Enseguida se realizaron 5 lavados con PBS-Tween 20 1:1000 a temperatura ambiente. Se adicionó a cada pozo 50 µl de suero de ratón infectado con *Heligmosomoides polygyrus* o con *Nippostrongylus brasiliensis* respectivamente, diluido 1:5 con leche descremada al 5% en PBS Tween 20 1:1000 y se incubó a 37°C durante 1 hora, posteriormente se realizaron 5 lavados con PBS-tween 20 1:1000. Se agregó a cada pozo 50 µl de antisuero (anti-IgG1 e IgG2a de ratón, SouthernBiotech) conjugado a peroxidasa y diluido 1:2000 en leche descremada al 1% en PBS Tween 20 1:1000, se incubó a 37°C por 1 hora y se realizaron 5 lavados. La reacción se reveló con 50 µl de solución cromógeno-substrato (OPD, peroxidase substrate, Sigma P-9187) por pozo, incubando por 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. La reacción se detuvo por adicionar 20 µl de ácido sulfúrico IN. El resultado se obtuvo registrando la absorbancia a 492 nm (Sunrise Tecan Microassay Reader). Como sueros control negativo se utilizaron sueros de ratones MRL/lpr de 4 semanas de edad y como suero control positivo respectivamente, el suero de ratones BALB/c infectados con 200 larvas de

*Heligmosomoides polygyrus* por vía oral, o bien, el suero de ratones BALB/c infectados con 500 larvas de *Nippostrongylus brasiliensis* por vía subcutánea y sangrados 21 días posteriores a la infección

## 12. DETERMINACIÓN DE CITOCINAS

Se determinó la concentración en suero de IFN- $\gamma$  (Th1) e IL-4 (Th2), para lo cual se utilizaron kits comerciales de la marca ENDOGEN (EM-IFN- $\gamma$  y EM-IL-4 respectivamente, Ma USA)



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Tabla II Condiciones óptimas para la determinación de Ac anti-bacterias y anti-helminos por ELISA**

<b>AGENTE INFECCIOSO</b>	<b>CONCENTRACIÓN ANTIGENO</b>	<b>DILUCIÓN SUERO</b>	<b>PLACAS</b>
<i>Nocardia brasiliensis</i>	0.5 µg Amortiguador de acetatos	1:5	Poliestireno Costar 3590
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Proteína A 0.05 µg Amortiguador de acetatos	1:2500	Poliestireno Costar 3590
<i>Heligmosomoides polygyrus</i>	0.25 µg Amortiguador salina fosfatos	1:5	Poliestireno Immulon IV®
<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>	0.25 µg Amortiguador salina fosfatos	1:5	Poliestireno Immulon IV

### **13. EVALUACION CLINICA E HISTOPATOLOGICA**

**13.1 Evaluación clínica.** Los ratones fueron evaluados por un investigador ajeno al tratamiento durante 6 semanas posteriores al mismo (ACF o las infecciones con *Heligmosomoides polygyrus*, *Nippostrongylus brasiliensis*, *Nocardia brasiliensis* o *Staphylococcus aureus*), con el objeto de visualizar la artritis y registrarla como positiva, en caso de observar eritema e inflamación en al menos una pata anterior o posterior

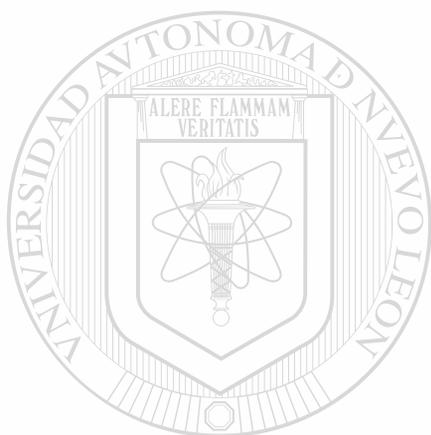
**13.2 Evaluación histopatológica.** Al final del estudio, los ratones fueron sacrificados y el tren posterior de los ratones se fijó en formol al 10%. A las 24 h se cambió la solución de formol. La descalcificación se llevó a cabo en una solución de ácido nítrico al 10% en etanol al 70% durante 2 días. Las patas se enjuagaron en agua corriente y fueron procesadas en un Histoquinet Autotechnicon (N.Y. USA) para incluir en parafina y se hicieron cortes en un microtomo tipo Minot Spencer (N.Y. USA) de 5-7  $\mu\text{m}$  de grosor. Posteriormente se hicieron tinciones con hematoxilina-eosina.

Los cortes histológicos de las articulaciones se evaluaron para la presencia o ausencia de las siguientes características:

- a) Sin lesión
- b) Inflamación de la membrana sinovial
- c) Hiperplasia de la membrana sinovial
- d) Formación de pannus
- e) Erosión de cartilago
- f) Destrucción de hueso (Hom, 1988)

#### 14. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ) fue calculada mediante la prueba de  $\chi^2$  para el análisis histopatológico, y la prueba de Kruskal Wallis para el análisis de anticuerpos, citocinas (SPSS software).



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## RESULTADOS

### 1. Obtención de IECC de *Nocardia brasiliensis* y de HES y NES de los parásitos es estudio.

Para realizar la determinación de anticuerpos anti-bacteria y anti-parásito fue necesario realizar la obtención del ECC de *Nocardia brasiliensis*, y los Ag HES y NES de los helmintos en estudio. Las cantidades de proteínas obtenidas por volumen de medio de cultivo fue semejante en los tres casos, sin embargo cabe resaltar que aunque las concentraciones obtenidas son semejantes entre si, existe una mayor dificultad técnica para obtener 500 ml de cultivo de los helmintos que de *Nocardia* (Tabla III). Por electroforesis se pueden apreciar los diferentes patrones electroforéticos que muestran las diferentes proteínas de estos agentes patógenos (Fig 1)

Tabla III. Concentración de Ag obtenidos a partir de los helmintos y de *Nocardia brasiliensis*

AGENTE INFECCIOSO	ANTÍGENOS mg proteína/volumen cultivo
<i>Heligmosomoides polygyrus</i>	1.12 mg/500 ml
<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>	1.66 mg/500 ml
<i>Nocardia brasiliensis</i>	1.31 mg/500 ml

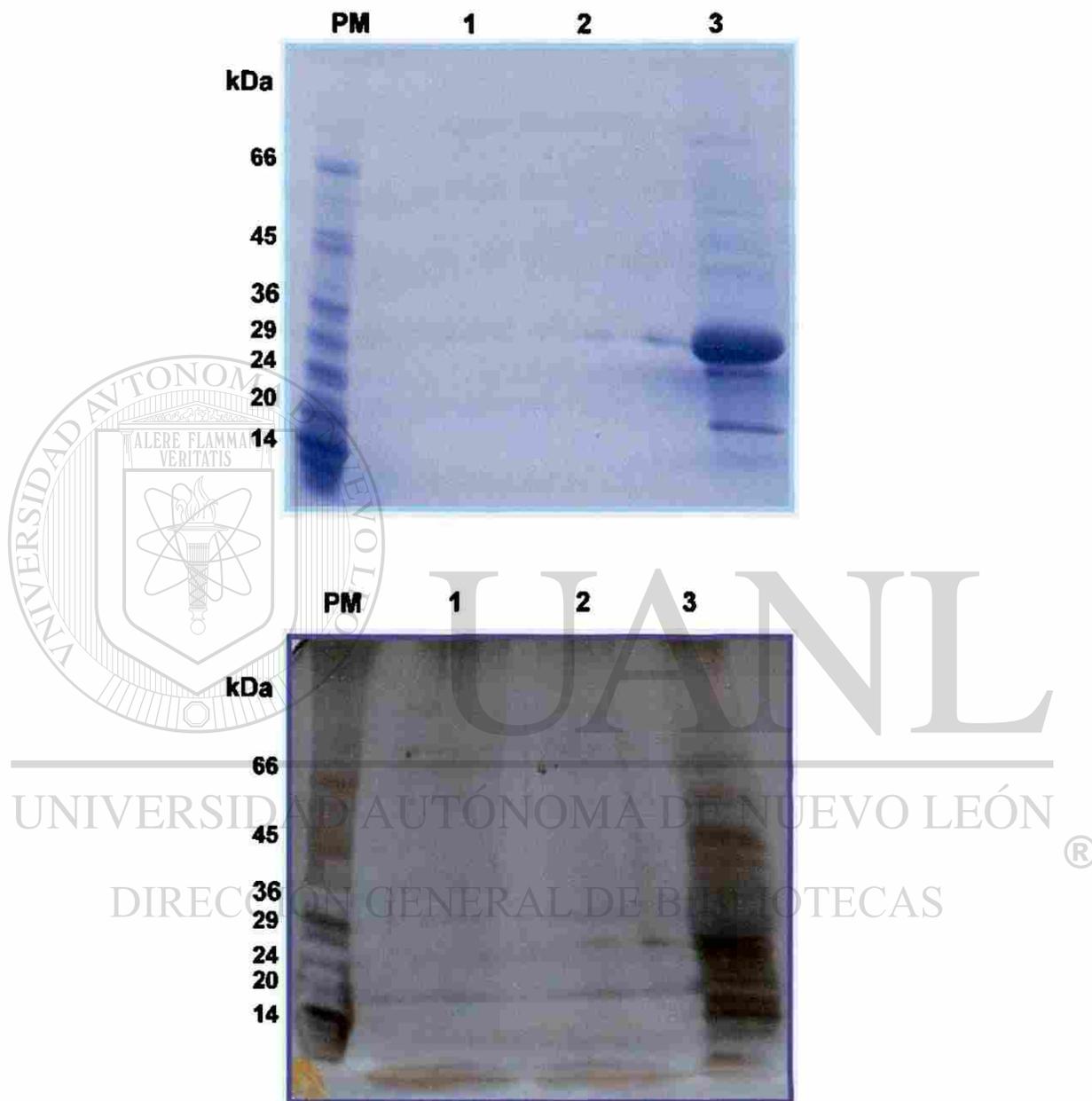
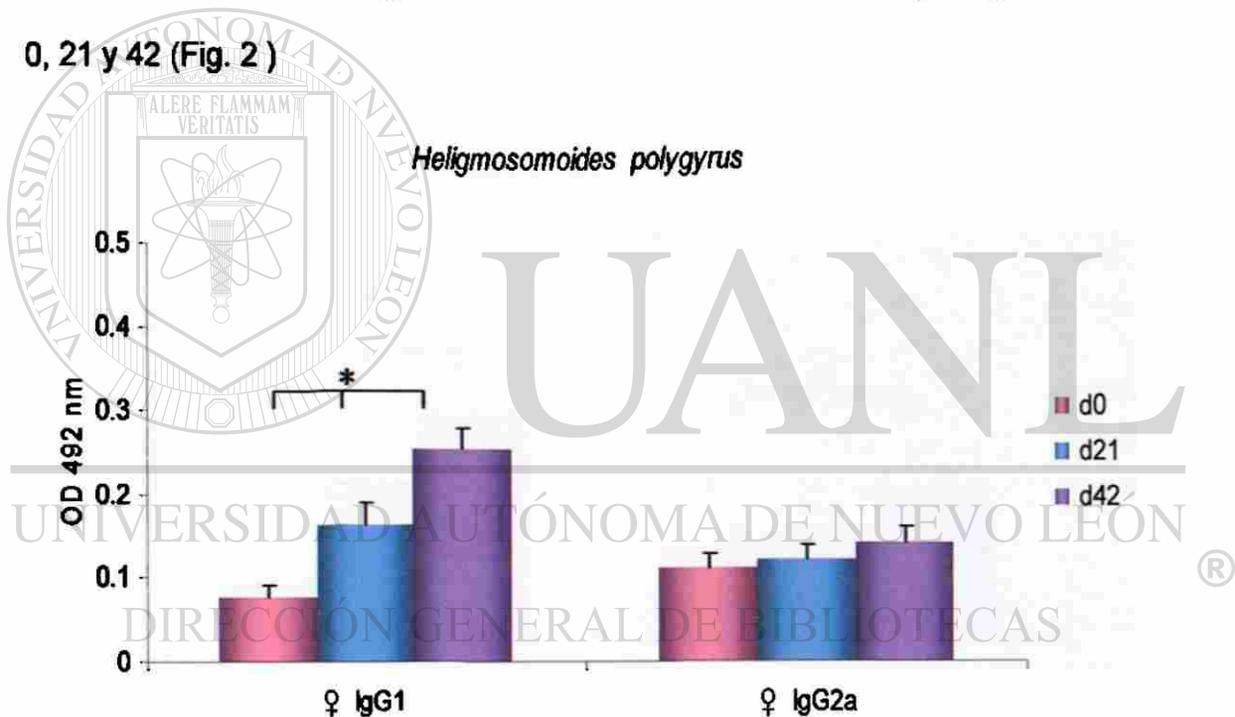


Fig 1. Análisis del patrón electroforético de HES (carril 1) y NES (carril 2) y del ECC de *Nocardia brasiliensis* (carril 3), en SDS-PAGE (Superior: tinción de Coomassie, inferior: tinción con nitrato de plata)

## 2. Determinación de anticuerpos en ratones MRL/lpr infectados con bacterias o helmintos

### Determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a en ratones MRL/lpr infectados con *Heligmosomoides polygyrus*

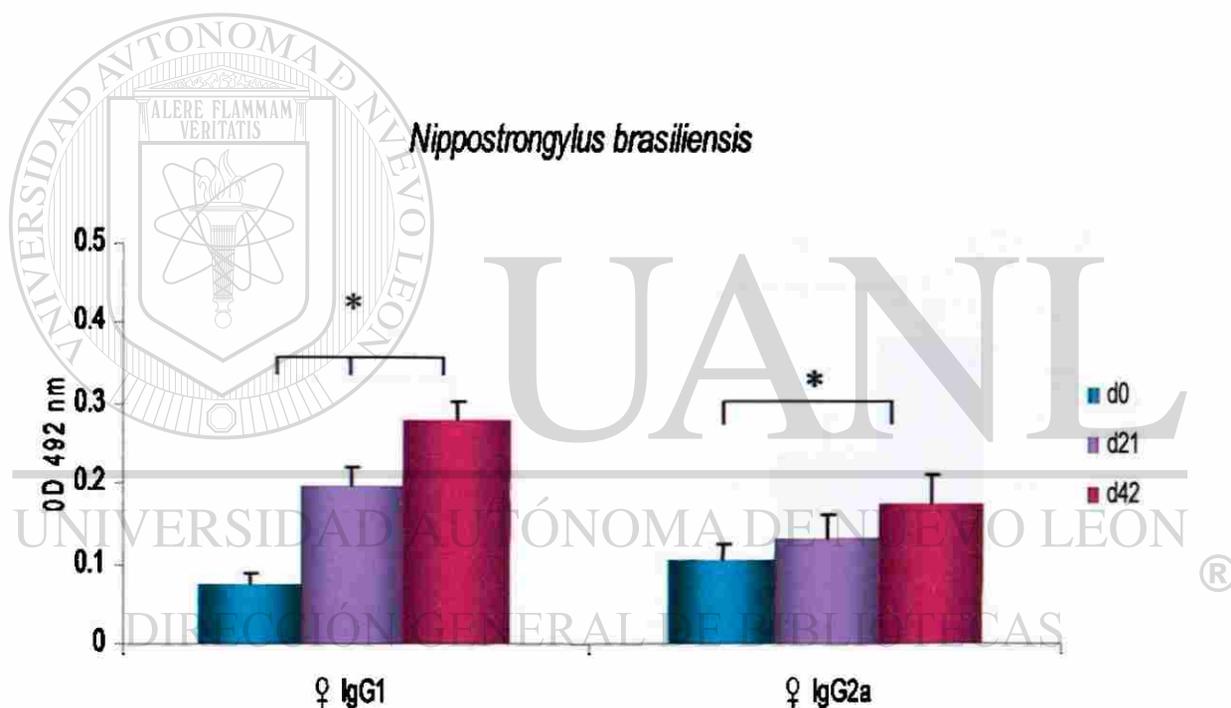
En el caso de los helmintos, específicamente para *Heligmosomoides polygyrus*, se observó un incremento en el nivel de IgG1 en los días 21 y 42, valores que son significativamente diferentes del día 0, al inicio del experimento ( $P < 0.0001$ ), no se encontraron diferencias significativas en los niveles de anticuerpos IgG2a en los días 0, 21 y 42 (Fig. 2)



**Fig 2. Determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a en ratones MRL/lpr infectados con *Heligmosomoides polygyrus*.** Ratones de 12 semanas de edad fueron infectados vía oral con 200 larvas (estadio infectivo L3) del helmito *Heligmosomoides polygyrus*. Las determinaciones se realizaron con el suero de los días 0, 21 y 42 posteriores al tratamiento. Un \* indica valores que muestran diferencia significativa en comparación con el día 0, al inicio del experimento ( $P < 0.05$ ).

### Determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a en ratones MRL/lpr infectados con *Nippostrongylus brasiliensis*

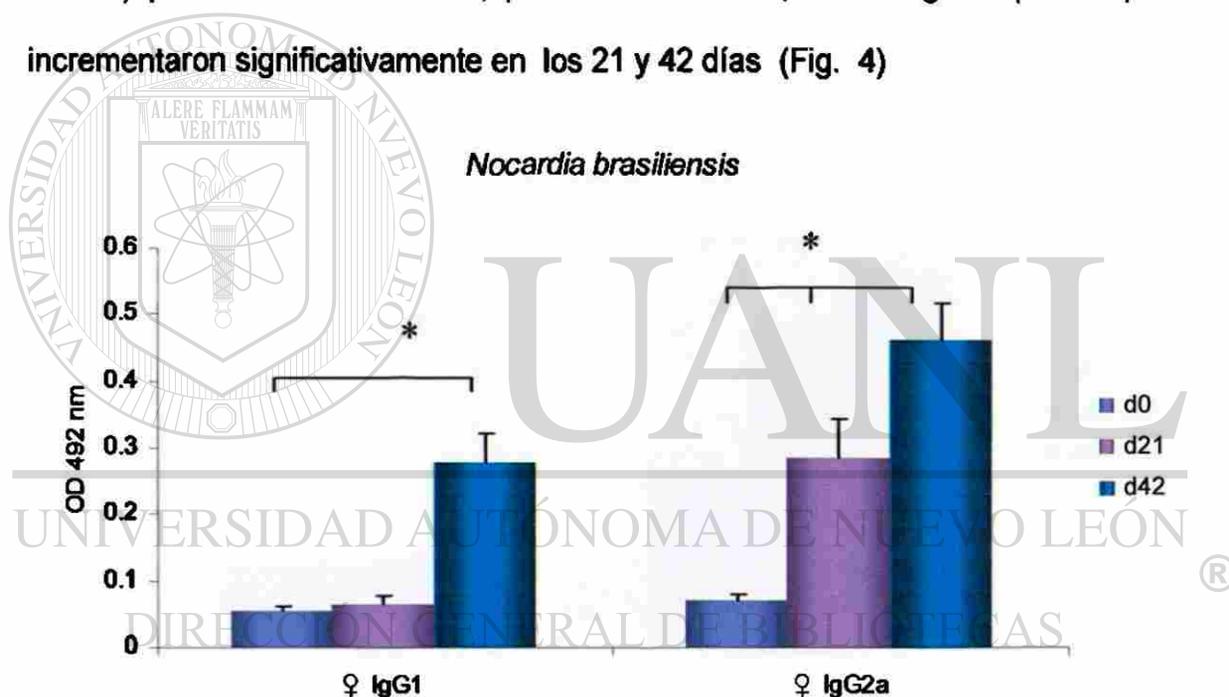
Los niveles séricos de IgG1 en ratones infectados con *Nippostrongylus brasiliensis*, se elevaron significativamente los días 21 y 42 ( $P < 0.0001$ ); además también se observó incremento en los niveles séricos de IgG2a en el día 42 (Fig 3).



**Fig 3. Determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a en ratones MRL/lpr infectados con *Nippostrongylus brasiliensis*.** Ratones de 12 semanas de edad fueron infectados vía subcutánea con 500 larvas (estado infeccioso L3) del parásito *Nippostrongylus brasiliensis*. Las determinaciones se realizaron con el suero de los días 0, 21 y 42 posteriores al tratamiento. Un \* indica valores que muestran diferencia significativa en comparación con el día 0 (al inicio del experimento) ( $P < 0.05$ )

## Determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a en ratones MRL/lpr infectados con *Nocardia brasiliensis*

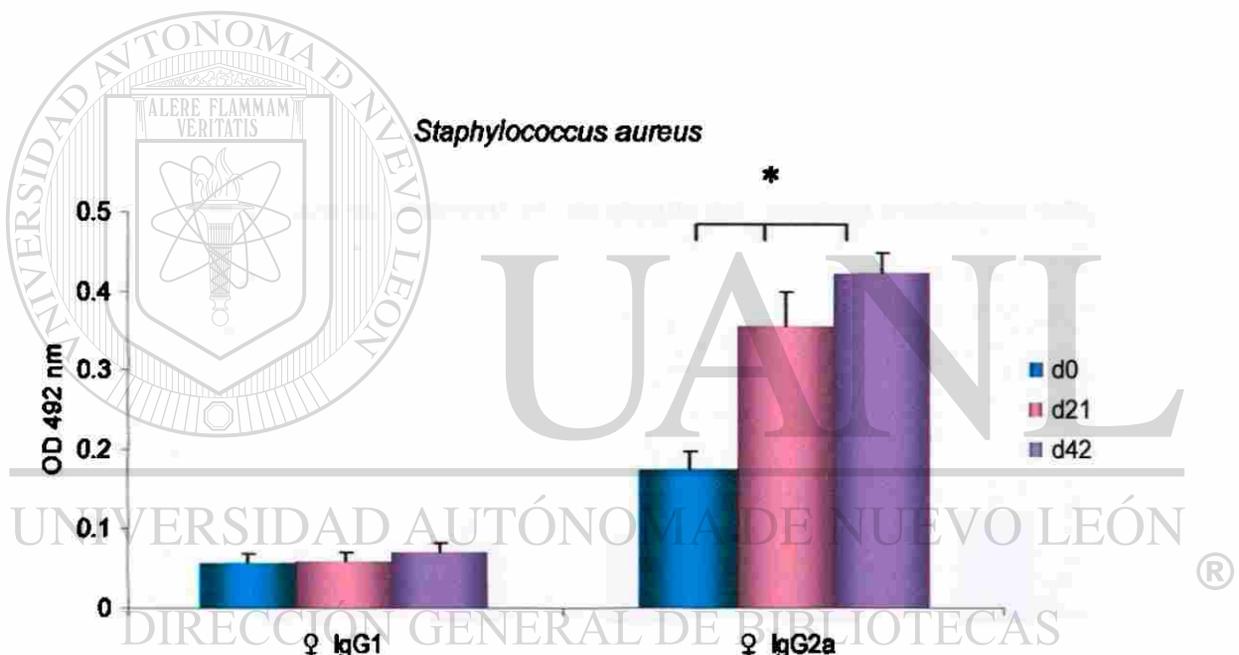
Los ratones infectados con bacterias mostraron cambios significativos en los niveles de Ac IgG2a. En forma particular, los niveles de IgG1 para el grupo de ratones infectados con *Nocardia brasiliensis*, se incrementó significativamente el día 42 ( $P < 0.0001$ ) posterior a la infección, pero no el día 21; los Ac IgG2a por su parte se incrementaron significativamente en los 21 y 42 días (Fig. 4)



**Fig 4. Determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a en ratones MRL/lpr infectados con *Nocardia brasiliensis*.** Ratones de 12 semanas de edad fueron infectados vía subcutánea con  $8 \times 10^8$  UFC/ml de *Nocardia brasiliensis*. Las determinaciones se realizaron con el suero de los días 0, 21 y 42 posteriores al tratamiento. Un \* indica valores que muestran diferencia significativa en comparación con el día 0 (al inicio del experimento) ( $P < 0.05$ )

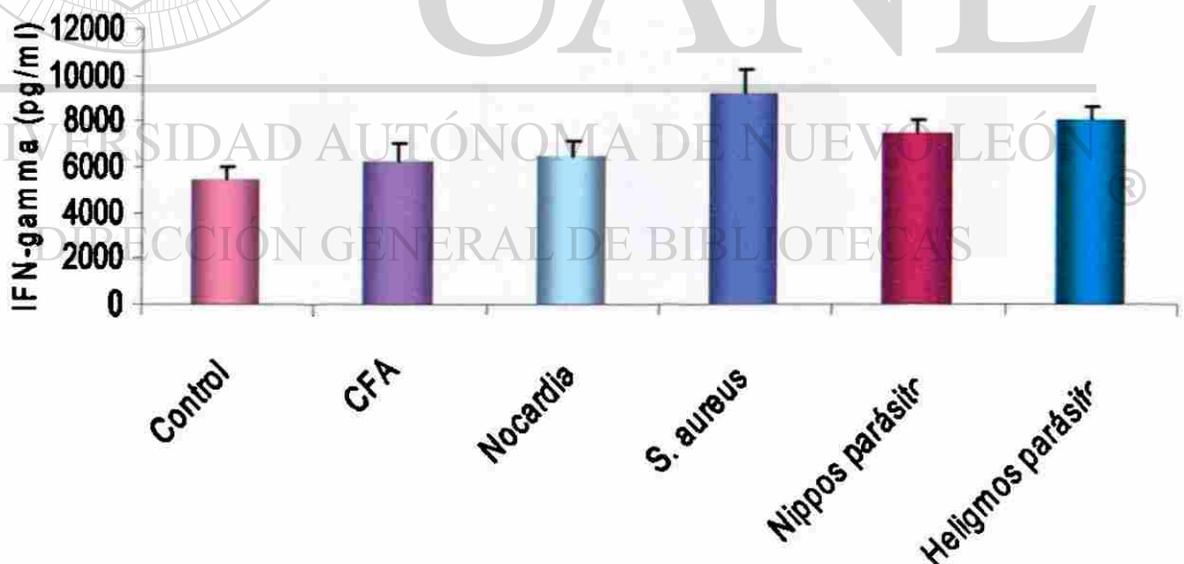
**Determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a en ratones MRL/lpr infectados con *Staphylococcus aureus*.**

La producción de Ac IgG2a en ratones infectados con *Staphylococcus aureus*, mostraron cambios significativos a los 21 y 42 días posteriores a la infección. No se observaron cambios para IgG1 a ningún tiempo (Fig 5)



**Fig 5. Determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2a en ratones MRL/lpr infectados con *Staphylococcus aureus*** Ratones de 12 semanas de edad fueron infectados vía subcutánea con  $1 \times 10^8$  UFC/ml de *Staphylococcus aureus* Las determinaciones se realizaron con el suero de los días 0, 21 y 42 posteriores al tratamiento. Un \* indica valores que muestran diferencia significativa en comparación con el día 0 (al inicio del experimento) ( $P < 0.05$ )

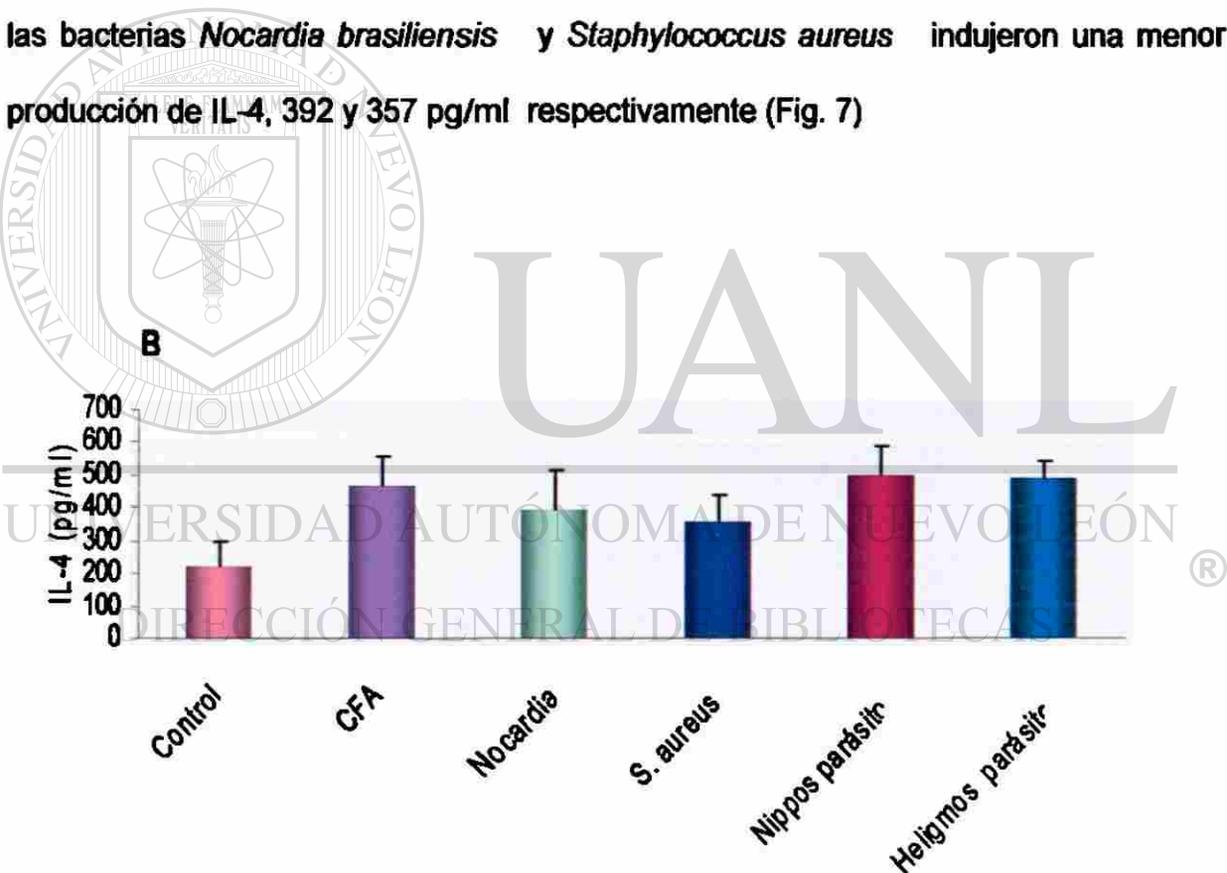
**3. Determinación de IFN- $\gamma$  en ratones MRL/lpr infectados con bacterias o helmintos.** Se observó un incremento en la concentración de IFN- $\gamma$  en todos los grupos de ratones ( $P < 0.0001$ ), en comparación con el grupo control (5480 pg/ml), aunque si bien la concentración más alta, 9170 pg/ml, la obtuvo el grupo de ratones infectados con *Staphylococcus aureus*, en cambio para los infectados con *Nocardia brasiliensis* el valor promedio obtenido fue de 6479 pg/ml. Por otro lado, los valores de IFN- $\gamma$  obtenidos en los ratones infectados con los helmintos *Heligmosomoides polygyrus* y *Nippostrongylus brasiliensis* fueron 7987 y 7470 pg/ml respectivamente. Para el grupo de ratones tratados con ACF el valor obtenido de 6261 pg/ml fue ligeramente menor que el obtenido en el grupo de ratones infectados con *Nocardia brasiliensis*. (Fig 6)



**Fig 6. Determinación de IFN- $\gamma$  en ratones MRL/lpr infectados con bacterias o helmintos.** La determinación de citocinas se realizó por una prueba de ELISA en el suero de ratones infectados con bacterias o helmintos y en los controles. Cada gráfica representa el promedio ( $\pm$  SE) de al menos 10 ratones. Todos los grupos muestran valores con diferencia significativa en comparación con el control negativo ( $P < 0.05$ )

#### 4. Determinación de IL-4 en ratones MRL/lpr infectados con bacterias o helmintos.

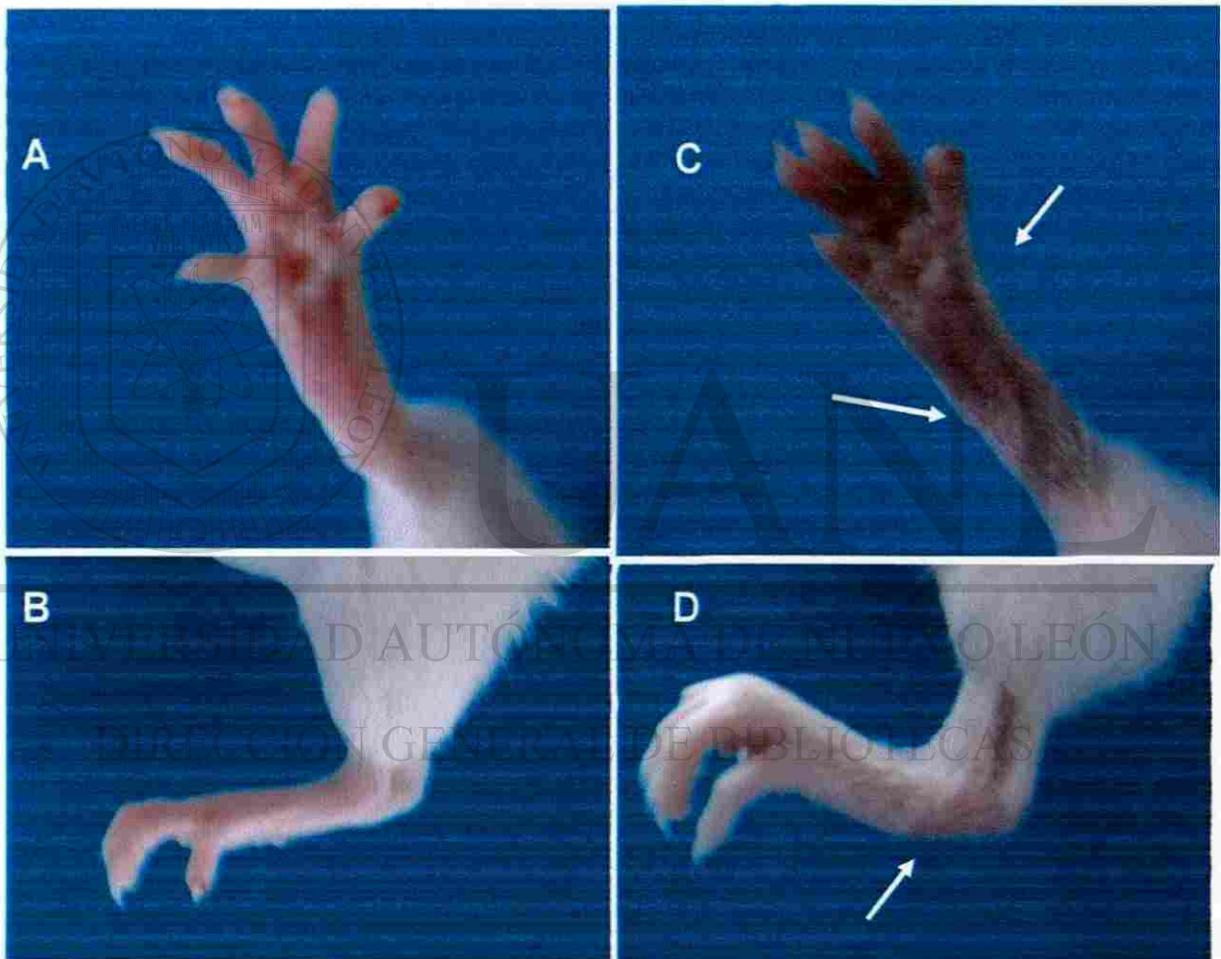
Por otro lado, la concentración de IL-4 sérica aumentó significativamente en todos los grupos de ratones en comparación con los ratones control ( $P < 0.0001$ ). Sin embargo, las concentraciones más elevadas de IL-4 se produjeron en los grupos de ratones infectados con los parásitos *H.p.* y *Nippo*s, 492 y 501 pg/ml respectivamente en comparación con el grupo control (223 pg/ml); y 470 pg/ml para el grupo de ratones inyectados (inmunizados) con ACF. Sin embargo los grupos de ratones infectados con las bacterias *Nocardia brasiliensis* y *Staphylococcus aureus* indujeron una menor producción de IL-4, 392 y 357 pg/ml respectivamente (Fig. 7)



**Fig 7. Determinación de IL-4 en ratones MRL/lpr infectados con bacterias o helmintos.** La determinación de citocinas se realizó por una prueba de ELISA en el suero de ratones infectados con bacterias o helmintos y en los controles. Cada gráfica representa el promedio ( $\pm$  SE) de al menos 10 ratones. Todos los grupos muestran valores con diferencia significativa en comparación con el control negativo ( $P \pm 0.05$ )

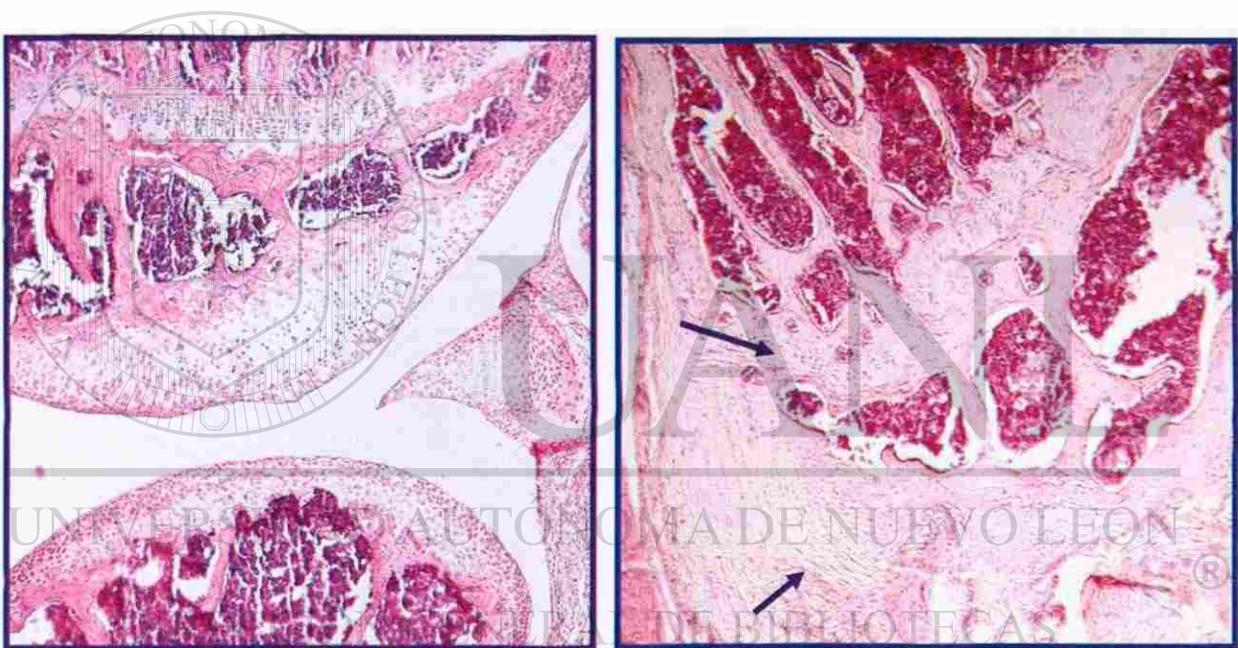
#### 4. Evaluación histopatológica de tejido articular de ratones MRL/lpr infectados con bacterias o helmintos.

Todos los grupos de ratones desarrollaron artritis, (pero no así todos los ratones de cada grupo, ni desarrollaron el mismo grado de daño articular) caracterizada por inflamación y eritema, principalmente en las articulaciones de las patas posteriores (Fig 8). Todos los grupos de ratones mostraron daño articular en diferente grado (tabla IV),



**Fig 8. Evaluación clínica de la artritis en el ratón MRL/lpr**  
A y B, tren posterior de ratones control sin lesión articular  
C y D, edema y eritema de pata trasera de un ratón infectado con *Staphylococcus aureus*

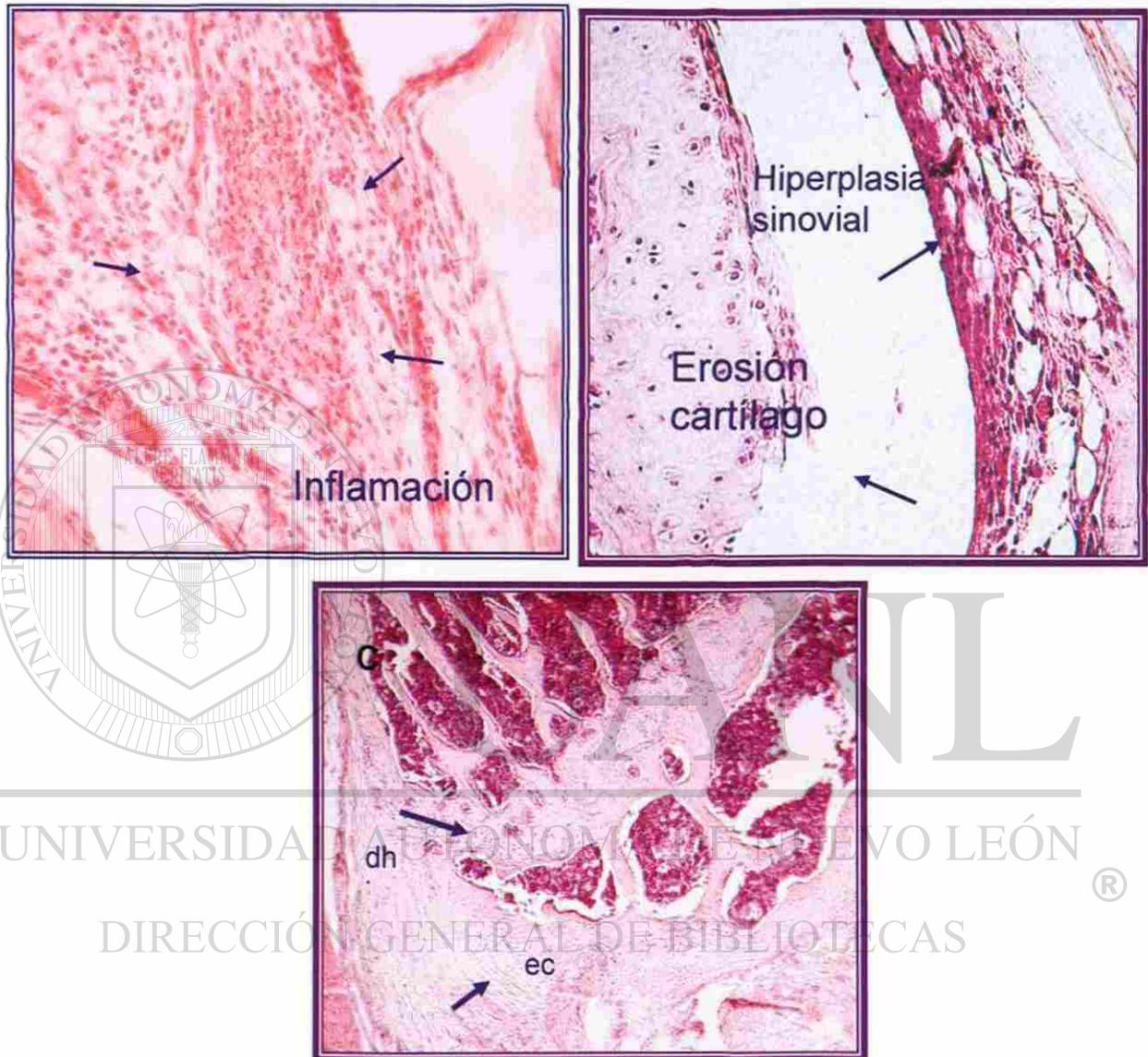
embargo, en algunos de los grupos hubo ratones que no desarrollaron artritis como el caso de los grupos de ratones infectados con helmintos y grupo control (Fig 8) La inflamación mas temprana ocurrió 5-6 días posteriores al tratamiento y perduró hasta el final del mismo, sin embargo algunos de los ratones de los grupos control e infectados con helmintos no desarrollaron artritis (30%). El desarrollo de artritis se evaluó por la presencia de inflamación de la sinovial, hiperplasia sinovial, pannus, erosión de cartilago o destrucción de hueso (Fig. 9).



Articulación normal

Erosión de cartilago y hueso

3. **Histopatología de la articulación en el ratón MRL/lpr.** Microfotografía de la articulación tibio-femorai en un ratón de la cepa MRL/lpr. A. Articulación sin daño; B. Articulación artritis. Se muestra erosión de cartilago (ec) y erosión de hueso (eh). Cortes de 5µm, tinción H y E. 10X



**Fig 10** Microfotografía de la articulación de un ratón de la cepa MRL/*lpr* con artritis  
 A. Inflamación de la sinovial; B. Hiperplasia sinovial con erosión d C. Erosión  
 de cartilago (ec) y destrucción de hueso (bd). Cortes de 5 $\mu$ m, tinción H y E

Los grupos de ratones infectados con las bacterias *Nocardia brasiliensis*, *Staphylococcus aureus*, y los inmunizados con ACF, incrementaron significativamente el número de ratones que desarrollaron etapas avanzadas de daño articular, tales como erosión de cartílago y hueso ( $P < 0.009$ ); mientras un menor

número de ratones infectados con helmintos desarrollaron lesiones articulares severas menos, como hiperplasia sinovial, pannus y (Fig. 10) erosión de cartílago sin llegar a la etapa de destrucción de hueso incluso algunos no presentaron artritis ( $P < 0.042$ )

El 36% de los ratones MRL/lpr infectados *Nocardia brasiliensis* desarrollaron principalmente hiperplasia sinovial, 45% erosión de cartílago, mientras que solamente el 9% desarrollaron destrucción de hueso. Por otro lado, la mayoría de los ratones infectados con *Staphylococcus aureus* mostraron etapas avanzadas de daño

articular, 30% erosión de cartílago, 60% destrucción de hueso y solamente 10% de los ratones desarrollaron pannus (10%). Una condición semejante a lo anterior fue la que se desarrolló en los ratones MRL/lpr inmunizados con ACF, en donde la mayoría de los ratones mostraron etapas avanzadas de la enfermedad; 50% erosión de

cartílago y 30% destrucción de hueso; en cambio en los ratones control un 40% desarrollaron erosión de cartílago y 10% no desarrollo artritis. En cuanto a los grupos

de ratones infectados con los helmintos *Heligmosomoides polygyrus* y *Nippostrongylus brasiliensis*, es de notar que en ambos grupos, el 30% no desarrollaron artritis, el 40% de los infectados con *Heligmosomoides polygyrus* mostró hiperplasia sinovial y el 10% destrucción de hueso; mientras que los infectados con *Nippostrongylus brasiliensis*, 40% desarrollaron erosión de cartílago y 10% erosión de hueso (Tabla 4).

**Tabla IV. Las bacterias y helmintos afectan la artritis espontánea en el ratón MRL/lpr**

Lesión tisular	AGENTE INFECCIOSO				
	Control	BACTERIA		HELMINTOS	
		<i>N. brasiliensis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>H. p</i>	<i>Nippos</i>
# de ratones afectados	9/10	10/11	10/10	7/10	7/10
Inflamación sinovial	1/10	1/11	0/10	0/10	0/10
Hiperplasia sinovial	3/10	4/11	0/10	4/10	1/10
Pannus	0/10	0/11	1/10	1/10	1/10
Erosión cartilago	4/10	5/11	3/10	1/10	4/10
Destrucción hueso	1/10	1/11	6/10	1/10	1/10

El 36% de los ratones MRL/lpr infectados *Nocardia brasiliensis* desarrollaron principalmente hiperplasia sinovial, 45% erosión de cartilago, mientras que solamente el 9% desarrollaron destrucción de hueso. Por otro lado, la mayoría de los ratones infectados con *Staphylococcus aureus* mostraron etapas avanzadas de daño articular, 30% erosión de cartilago, 60% destrucción de hueso y solamente 10% de los ratones desarrollaron pannus (10%). Una condición semejante a lo anterior fue la que se desarrolló en los ratones MRL/lpr inmunizados con ACF, en donde la mayoría de los ratones mostraron etapas avanzadas de la enfermedad; 50% erosión de cartilago y 30% destrucción de hueso; en cambio en los ratones control un 40% desarrollaron erosión de cartilago y 10% no desarrollo artritis. En cuanto a los grupos de ratones infectados con los helmintos *Heligmosomoides polygyrus* y *Nippostrongylus brasiliensis*, es de notar que en ambos grupos, el 30% no desarrollaron artritis, el 40% de los infectados con *Heligmosomoides polygyrus* mostró hiperplasia sinovial y el 10% destrucción de hueso; mientras que los infectados con *Nippostrongylus brasiliensis*, 40% desarrollaron erosión de cartilago y 10% erosión de hueso (Tabla 4).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## Discusión

Al infectar a un organismo, los agentes patógenos inducen una respuesta inmune tipo Th1 o Th2 al activar una subpoblación particular de LT (Del Prete, 1991; Sartono, 1996) Para evaluar el tipo de respuesta Th1 o Th2 inducida por la infección de ratones MRL/lpr con bacterias o helmintos, se midieron las citocinas IL-4 e IFN- $\gamma$  así como las IgG1 e IgG2a. Se seleccionó IgG1 como indicador de una respuesta Th2, e IgG2a para Th1; en cuanto a las citocinas, el IFN- $\gamma$  predomina en la respuesta Th1 mientras que la IL-4 es característica de Th2.

Las infecciones con helmintos se caracterizan principalmente por un incremento en el nivel de Acs IgG1 (Th2). La infección con helmintos induce una respuesta inmune que es polarizada hacia un fenotipo Th2, lo cual se refleja en la producción de citocinas, IgG1 e IgE (Lebrun, 1987; Maizels, 1993; Finkelman, 1997; Locksley, 1994; Kamata, 1995; Allen, 1996; Pritchard, 1997;) así como activación de eosinófilos y células cebadas (Befus, 1979; Jarret, 1982; Finkelman, 1990). En este trabajo, los ratones infectados con los helmintos *Heligmosomoides polygyrus* o *Nippostrongylus brasiliensis* produjeron niveles significativos de Ac IgG1 en los días 21 y 42 post-infección, lo que se asocia con una respuesta Th2 y concuerda con reportes previos. Los parásitos o sus productos, como las proteasas de *Nippostrongylus brasiliensis* (Kamata, 1995) o los Ag HES y NES poseen la capacidad de inducir la síntesis de IgG1 e IgE en ratones BALB/c (Holland, 2000)

La infección de los ratones MRL/lpr con las bacterias *Nocardia brasiliensis* y *Staphylococcus aureus* incrementa significativamente el nivel de los Acs IgG2a (Th1). Los ratones infectados con *Staphylococcus aureus* mostraron niveles elevados de IgG2a en los días 21 y 42 post-infección, no se observaron cambios en los niveles de IgG1 como era de esperarse, ya que esta bacteria ha sido reportada

como fuerte inductora de respuesta tipo Th1. En el presente estudio se utilizó la cepa de *Staphylococcus aureus* Cowan I, cuya proteína A, es un excelente superantígeno. Está bien documentado que contribuye a su patogenicidad e induce niveles elevados de IgG2a, característicos de una respuesta tipo Th1.

Los niveles séricos de Ac IgG2a en ratones MRL/lpr infectados con *Nocardia* se incrementaron significativamente en los días 21 y 42 post-infección, mientras que los Ac IgG1 se elevaron hasta el día 42. En el día 21 no se encontró una diferencia significativa en comparación con el control. Lo anterior evidencia la capacidad de los Ag inmunodominantes de *Nocardia brasiliensis* de generar una respuesta Th1 y Th2 durante la infección, lo que se corrobora con la determinación de niveles elevados de IgG1 e IgG2a. Resultados similares habían sido reportado en el trabajo de tesis de Pérez-Rivera (2005), al evaluar la producción de IgG en respuesta a los Ag inmunodominantes de *Nocardia brasiliensis*. En este estudio, los niveles de IgG total se elevaron de manera significativa a los 45 días post-inmunización, el Ag P24 indujo la producción de IgG1, mientras que P61 y proteasa estimularon la síntesis de IgG2b/IgG1, e IgG2a/IgG3 respectivamente.

**La infección de los ratones MRL/lpr con helmintos induce un incremento en la síntesis de IL-4.** En este trabajo, la producción sérica de IL-4 por los ratones MRL/lpr infectados con los helmintos *Heligmosomoides polygyrus* y *Nippostrongylus brasiliensis* fue mayor. Estos resultados concuerdan con los hallazgos reportados previamente de que la infección con los helmintos *Heligmosomoides polygyrus* y *Nippostrongylus brasiliensis*, estimulan una respuesta por células T, específicamente Th2 (Holland, 2000 Finkelman 2004).

También se observó un incremento del IFN- $\gamma$  en ambos grupos de nuestros ratones infectados con helmintos, sin embargo esto se presentó en una proporción menor que

la observada en los grupos infectados con bacterias. Cabe remarcar que los ratones MRL/lpr tienden a presentar aun sin infección, un nivel basal de IFN- $\gamma$  elevado, como se puede observar en el control (Fig 6). Lo anterior había sido previamente reportado por Takahashi (1996). Las principales citocinas en la respuesta Th2 son IL-4 e IL-13, y la presencia de IFN- $\gamma$  sugiere una respuesta Th1. Clásicamente se admite que las respuestas Th1/Th2 son mutuamente excluyentes (Seder, 1994), sin embargo existe evidencia de respuesta no tan polarizada y que la infección por helmintos se acompaña de la producción de IL-4, IL-5, IL-3, pero también IFN- $\gamma$  en baja concentración S (Street 1990; Svetic 1992).

**Los ratones infectados con *Nocardia brasiliensis* y *Staphylococcus aureus* inducen principalmente la síntesis de IFN- $\gamma$ .** En este estudio, observamos que los ratones infectados con bacterias, indujeron la producción significativa de IFN- $\gamma$ . Es importante señalar que el grupo de ratones infectados con *Staphylococcus aureus* indujo la mayor producción de IFN- $\gamma$ . Este microorganismo promueve fuertemente una respuesta tipo Th1 y se ha reportado su capacidad para inducir la síntesis de citocinas tales como IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-6; (Nakane, 1995). Adicionalmente, se ha descrito un incremento del IFN- $\gamma$  (hasta 10 veces su nivel basal) en ratones infectados con *Nocardia brasiliensis*; aún que ésta se acompañó en los primeros días, de la producción de IL-4, IL-6 e IL-10 (Salinas-Carmona, 1999).

En este estudio, observamos que la producción de IL-4 también se elevó en ambos grupos de ratones infectados por bacterias, pero sin alcanzar el nivel del IFN- $\gamma$ . Nuevamente, aunque existió un predominio de una respuesta de citocinas Th1, se observó la producción concomitante de citocinas Th2, las cuales podrían tener un papel inmunoregulador al limitar el exceso de la respuesta inflamatoria en la infección por *Staphylococcus aureus* (Sasaki 2000).

**Los ratones infectados con bacterias desarrollan artritis con grados avanzados de lesión articular.** De los ratones infectados con las bacterias, el 100% desarrollo artritis, con etapas avanzadas de daño articular (erosión de cartílago y destrucción de hueso). Es importante resaltar que se ocasionó artritis severa en la mayoría de los ratones. Esto podría ser explicado por la presencia del superAg en la cepa de *Staphylococcus aureus* utilizada (Bremell, 1994 y 1995).

Los ratones infectados con *Nocardia brasiliensis*, también desarrollaron daño del tejido articular y cabe la posibilidad de que las proteasas de *Nocardia* juegen un papel importante en estas lesiones (Vázquez 1998; Licón-Trillo, 2003). Por lo contrario, en el grupo control, el 90% desarrollo artritis, pero de ellos, solamente el 10% presentó erosión de hueso; mientras que el grupo testigo tratado con ACF presento erosión de cartílago y hueso. Este último resultado concuerda con los reportados por Ratkay (1993) y Vázquez (1998).

**La infección con helmintos disminuye el número de ratones que desarrollan artritis.** De los grupos de ratones MRL/lpr infectados con los helmintos solo el 30% no desarrollo artritis ( $P < 0.042$ ), el 70% que si la desarrollaron, mostraron en su mayoría lesiones leves de daño articular. Este resultado fue más notable en el grupo de ratones infectados con *Heligmosomoides polygyrus* en los que 40% de los ratones desarrollaron hiperplasia sinovial sin llegar a un grado avanzado de lesión articular, solamente un 10% desarrollaron destrucción de hueso. El efecto inmunomodulador anti-inflamatorio inducido por parásitos o sus productos (huevos o proteínas) ha sido ampliamente demostrado, como es el caso de la glicoproteína ES-62 derivada de las filarias y se ha determinado que incluso es capaz de suprimir el inicio de AIC y la progresión de la artritis (Harnett: 2004).

De acuerdo a estudios recientes y a nuestros resultados, parece ser que la infección con *Heligmosomoides polygyrus* tiene la capacidad de limitar la aparición de la artritis o bien la progresión de la enfermedad en ratones MRL/lpr genéticamente predispuestos a desarrollarla.

Aunque *Nippostrongylus* disminuyó la frecuencia de aparición de la artritis, un 40% de los ratones infectados desarrollo erosión de cartílago y un 10% a la destrucción de hueso. Una posible explicación a las diferencias de respuesta entre los dos helmintos, es el tipo de enfermedad que ocasiona, mientras que la infección por *Heligmosomoides polygyrus* es crónica, en *Nippostrongylus brasiliensis* es aguda, por lo que el tiempo de contacto con los Ag difiere de un parásito a otro. La permanencia del Ag parece importante para el efecto protector.

Con el presente estudio, demostramos de una manera general, que la infección con bacterias induce una respuesta inmune tipo Th1 y acelera la artritis que desarrolla el ratón MRL/lpr; mientras que la infección con parásitos se acompaña de una respuesta Th2 y disminuye la frecuencia de artritis. Sin embargo, no se puede generalizar y

asociar estrictamente un tipo de infección (bacterias o helmintos) con un tipo de respuesta inmune (Th1, o Th2). De la misma manera, el efecto protector contra la artritis se observó claramente en el caso de *Heligmosomoides polygyrus* pero no fue así por el otro parásito. Esta diferencia de respuesta se observó también en el caso de las bacterias. Si bien *Staphylococcus aureus* al favorecer un estado inflamatorio, promueve la aparición de la artritis, la infección por *Nocardia brasiliensis* no produjo un efecto tan evidente.

Estos resultados son alentadores para investigar más ampliamente el efecto inmunomodulador de la infección por parásitos o sus productos, en el desarrollo de la artritis y su posible aplicación uso con potencial terapéutico.

## CONCLUSIONES

■ La infección con *Staphylococcus aureus* induce una respuesta inmune predominante de tipo Th1 ( $\uparrow$ IgG2a e  $\uparrow$  IFN- $\gamma$ ), mientras que la infección por *Nocardia brasiliensis* induce la producción de ambos tipos de Ac (IgG1 e IgG2a) y una elevación en la producción de IL-4 e IFN- $\gamma$ .

■ Los helmintos *Heligmosomoides polygyrus* y *Nippostrongylus brasiliensis*, inducen principalmente la síntesis de IgG1 y la producción significativa de IL-4, por lo que se puede inferir que provocan una respuesta de tipo Th2

■ Los helmintos *Heligmosomoides polygyrus* y *Nippostrongylus brasiliensis*, disminuyen la frecuencia de aparición de la artritis en el ratón MRL/lpr. En el caso específico de *Heligmosomoides polygyrus* disminuye también el grado de daño tisular

■ En cambio, la infección de los ratones con *Staphylococcus aureus* y *Nocardia brasiliensis*, incrementó el grado de lesión articular.

## PERSPECTIVAS

Estudiar el papel que juegan los antígenos inmunodominantes de los helmintos *Heligmosomoides polygyrus* y *Nippostrongylus brasiliensis* como agentes reguladores de una respuesta inflamatoria crónica, tal como ocurre en la artritis.

Esto nos permitiría realizar reinmunizaciones con dichos antígenos de los helmintos, con el propósito de inducir etapas de remisión de la enfermedad, incluso implementar el desarrollo de una vacuna para el tratamiento de la artritis

## BIBLIOGRAFIA

**Aarvak, T., Chabaud, M., Miossec, P. and Natvig, J.B.** 1999. IL-17 Is Produced by Some Proinflammatory Th1/Th0 Cells but Not by Th2 Cells. *J Immunol* **162**: 1246-1251.

**Aarvak, T., Chabaud, M., Thoen, J., Miossec, P. and Natvig, J.B.** 2000. Changes in the Th1 or Th2 Cytokine Dominance in the Synovium of Rheumatoid Arthritis (RA): A Kinetic Study of the Th Subsets in One Unusual RA Patient. *Rheumatology*. **39(5)**:513-522.

**Abbas, A., Lichtman, A., Pober, J.S.** 2000. *Cellular and Molecular Immunology*. Saunders Company. p. 3-38.

**Abbas, A.K., Murphy, K.M., Sher, A.** 1996. Functional Diversity of Helper T Lymphocytes. *Nature* **383**:787.

**Actor, J., Shirai, M., Kullberg, M., Buller, R., Sher, A. and Berzofsky, J.** 1993. Helminth Infection Results in Decreased Virus-Specific CD8<sup>+</sup> Cytotoxic and Th1 Cytokine Responses as Well as Delayed Virus Clearance. *Proc Natl Acad Sci* **90**: 948-952.

**Allen, J. and Maizels, R.** 1996. Immunology of Human Helminth Infection. *Int Arch allergy Immunol* **109**:3-10.

**Alstergren, P.** 2000. Cytokines in Temporomandibular Joint Arthritis. *Oral Diseases*. **6**:331-334.

**Anders, H.J.** 2005. A Toll for Lupus. *Lupus*. **14**:417-422.

**Anders, H.J., Zecher, D., Pawar, R.D. and Patole, P.S.** 2005. Molecular Mechanisms of Autoimmunity Triggered by Microbial Infection. *Arthritis Research & Therapy*. **7**:215-224.

**Anderson, R.C.** 2000. *Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission*, Edn 2, CABI International, Oxon, UK.

**Andrews, B., Eisenberg, A., Theofilopoulos, S., Izui, C., Wilson, P., MaConahey, P., Murphy, E., Roths, J. and Dixon, F.** 1987. Spontaneous Murine Lupus-Like Síndromes: Clinical and Immunopathological Manifestations in Several Strains. *J Exp Med* **148**:1198.

**Artis, D., Humphreys, N., Bancroft, A., Rothwell, N., Potter, C. and Grecis, R.** 1999. Tumor Necrosis Factor Alpha is a Critical Component of Interleukin 13-Mediated Protective T Helper Cell type 2 Responses During Helminth Infection. *J Exp Med* **7**:953-62.

**Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A. and Struhl, K.** 1999. *Short Protocols in Molecular Biology*. Wiley. p. 4.1 - 4.27.

**Avrameas, S.** 1991. Natural Autoantibodies: From "Horror Autotoxicus" to "Gnothi Seauton". *Immunology Today*. **12(5)**:154-159.

**Bach, J.F.** 2002. The Effect of Infections on Susceptibility to Autoimmune and Allergic Diseases. *N. Engl. J. Med.* **347**:911-920.

**Baggi, F., Andretta, F., Caspani, E., Milani, M., Longhi, R., Cornelio, F. and Antozzi, C.** 1999. Oral Administration of an Immunodominant T-Cell Epitope Downregulates Th1/Th2 Cytokines and Prevents Experimental Myasthenia Gravis. *J Clin Invest* **9**:1287-95.

**Beaman, B. and Beaman, L.** 1994. *Nocardia* species: Host-parasite Relationships *Clinical Microbiology Review*. **7(3)**:357-417.

**Beckman, E., Procelli, S., Morita, C., Behar, S., Furlong, S. and Brenner, M.** 1994. Recognition of a Lipid Antigen by CD1-Restricted  $\alpha\beta^+$  T Cells. *Lett Nat* **372**:691-694.

**Befus, A.D. and Bientock J. 1979. Immunologically mediated intestinal mastocytosis in Nippostrongylus brasiliensis-infected rats. Immunology. 38:95.**

**Behar,S.M. and Porcelli,S.A. 1995. Mechanisms of Autoimmune Disease Induction.The Role of the Immune Response to Microbial Pathogens. Arthritis Rheum 38: 458-476**

**Behnke, J.M., Hannah, J. and Pritchard, D. 1983. Nematospiroides dubius in the Mouse: Evidence that Adult Worms Depress the Expression of Homologous Immunity. Parasite Immunology. 5:397-408.**

**Behnke, J.M., Wahid, F.N., Grecis, R.K., Else, K.J., Ben-Smith, A.W. and Goyal, P.K. 1993. Immunological Relationships During Primary Infection with Heligmosomoides polygyrus (Nematospiroides dubius): Downregulation of Specific Cytokine Secretion (IL-9 and IL-10) Correlates with Poor Mastocytosis and Chronic Survival of Adult Worms. Parasite Immunology.15:415-421.**

**Beighton, P., Solomon, L. and Valkenburg, H. 1975. Rheumatoid Arthritis in a Rural South African Negro Population. Ann Rheum Dis 34:136-141.**

---

**Benoist, C. and Mathis, D. 2001. Autoimmunity Provoked by Infection: How Good is the Case for T Cell Epitope Mimicry [review]? Nat. Immunol. 2:797-801.**

**Ben-Smith, A., Wahid, Lammas, D.A. and Behnke, J.M. 2002. The Relationships Between Circulating and Intestinal Heligmosomoides polygyrus-Specific IgG, and IgA and Resistance to Primary Infection. Parasite Immunology. 21:383-395.**

**Bentwich, Z., Weisman, Z., Moroz, C., Bar-Yehuda, S. and Kalinkovich, A. 1995. Immune Dysregulation in Ethiopian Immigrants in Israel: Relevance to Helminth Infections. Clin Exp Immunol 103:239-243.**

**Berg, D., Jun, R., Rajewsky, K., Muller, W., Menon, S., Davidson, N., Gruing, G. and Rennick, D. 1995. Interleukin-10 is a Central Regulator of the Response to LPS in**

Murine Models of Endotoxine Shock and the Schwartzman Reaction but not Endotoxin Tolerance. *J Clin Investing* **96**:2339-2347.

Berner, B., Akca, D., Jung, T., Muller, G. and Reuss-Borst, M. 2000. Análisis of Th1 and Th2 Cytokines Expressing CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T Cells in Rheumatoid Arthritis by Flow Cytometry. *J Rheum* **27**:1128-35.

Billiau, A. and Matthyx, P. 2001. Modes of Action of Freund's Adjuvants in Experimental Models of Autoimmune Diseases. *J Leukoc Biol.* **70**:849-860.

Bouvet, J.P., Couderc, J., Bouthillier, Y., Franc, B., Ducaillar, A. and Mouton, D. 1990. Spontaneous Rheumatoid-Like Arthritis in A Line of Mice Sensitive to Collagen-Induced Arthritis. *Arthritis and Rheumatism.* **33**(11): 1716-1722.

Bouzahzah, F., Jung, S. and Craft, J. 2003. CD4 + T Cells from Lupus-Prone Mice Avoid Antigen-Specific Tolerance Induction In Vivo. *J Immunol.* **170**:741-748.

Bradford, M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem* **72**:248-254.

Bremell, T. and Tarkowski, A. 1995 Preferential Induction of Septic Arthritis and Mortality by Superantigen-Producing Staphylococci. *Infect Immun* **63**:4185-4187.

Bremell, T., Lange, S. and Holmdahl, D. 1994. Immunopathological features of rat *Staphylococcus aureus* Arthritis. *Infect Immun* **62**:2334-2344.

Brennan, F. and Feldman, M. 1996. Cytokines in Autoimmunity. *Curr Opin Immunol* **8**:872-877.

Brostoff, J., Scadding, G.K., Male, D. And Roitt, I.M. 1994. *Inmunología Clínica.* Mosby/Doyma. Pp5.1-5.15.

**Campbell, J.D. and HayGlass, K.T.** 2000. T Cell Chemokine Receptor Expression in Human Th1- and Th2- associated Diseases. Arch Immunol R.

**Cañete, J.D., Martínez, S.E., Farrés, J., Sanmartí, R., Blay, M., Gómez, A., Salvador, G. and Muñoz-Gómez, J.** 2000. Differential Th1/Th2 Cytokine Patterns in Chronic Arthritis: Interferon  $\gamma$  is Highly Expressed in Synovium of Rheumatoid Arthritis Compared with Seronegative Spondyloarthropathies. Ann Rheum Dis **59**:263-268.

**Carayannopoulos, M., Potter, K., Li, Y., Natvig, J. and Capra, J.** 2000. Evidence that Human immunoglobulin M Rheumatoid Factors can be Derived from the Natural Autoantibody Pool and Undergo an Antigen Driven immune Response in which Somatic Mutated rheumatoid Factors have Lower affinities for Immunoglobulin G Fc than Their Germline Counterparts. Scand J Immunol **51**:327-336.

**Caro, M.R., Buendía, A.J., Ortega, N., Gallego, M.C., Martínez, C.M., Cuello, F., Ruiz-Ybañez, M.R., Erb, K.J. and Salinas, J.** 2005. Influence of the Th2 Immune Response Established by *Nippostrongylus brasiliensis* Infection on the Protection Offered by Different Vaccines Against *Chlamydomydia abortus* Infection. Veterinary Research Communications. **29(1)**: 51-59.

**Chabaud, M., Durand, J.M., Buchs, N., Fossiez, F., Page, G., Frappart, L. and Miossec, P.** 1999. Human Interleukin-17. A T Cell- Derived Proinflammatory Cytokine Produced by the Rheumatoid Synovium. Arthritis & Rheumatism. **42(5)**:963-970.

**Chan, O., Madaio, M. and Schlomchink, M.** 1999. B Cells Are Required for Lupus Nephritis in the Polygenic, Fas-Intact MRL Model of Systemic Autoimmunity<sup>1</sup>. J Immunol **163**:3592-3596.

**Chan, O.T., Madaio, M.P. and Shlomchik, M.J.** 1999. The Central and Multiple Roles of B Cells in Lupus Pathogenesis. Immunol Rev. **169**:107-121.

**Chan, O.T.M. and Schlomchik.** 2000. Cutting Edge: B Cells Promote CD8<sup>+</sup> T Cell Activation in MRL- Fas<sup>0/0</sup> Mice Independently of MHC Class I Antigen Presentation. The Journal of Immunology. **164**:1658-1662.

**Chaouat, G., Ledée-Bataille, N., Dubanchet, S., Zourbas, S., Sandra, O., and Martal, J. 2004. Th1/Th2 Paradigm in Regnancy: Paradigm Lost. Int Arch Allergy Immunol 134:93-119.**

**Charlton, B. and Lafferty, K.J.1995. The Th1/Th2 Balance in Autoimmunity. Curr Opin Immunol 7(6): 793-798.**

**Chen, E., Keystone, E.C. and Fish, E.N. 1993. Restricted Cytokine Expression in Rheumatoid Arthritis. Arthritis & Rheumatism. 36(7):901-910.**

**Chillingworth, N. and Donaldson, L. 2003. Characterisation of a Freud's Complete Adjuvant-Induced Model of Chronic Arthritis in Mice. J Neuros Met 128:45-52.**

**Choi, Y., Ramnath, V.R., Eaton, A.S., Chen, A., Simon-Stoos, K.L., Kleiner, D.E., Erikson, J. and Puck, J.M. 1999. Expression in Transgenic Mice to Dominant Interfering Fas Mutations: A Model for Human Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome. Clinical Immunology. 93(1): 34-45.**

**Choileain, N. and Redmond, H.P. 2005. Regulatory T-Cells and Autoimmunity. J Surg Res 130:124-135.**

**Chomczynski, P. and Sacchi, N. 1987. Single Step Method for RNA Isolation by Acid Guanidium Thiocyanate-Phenol-Choloform Extraction. Anal Biochem 162:156-159.**

**Chowdhary, R., Ratkay, L., Canaan, A., Waterfield, D., Ritcher, A. and Levy, J. 1997. Uptake of Verteporfin by Articular Tissues Systemic and Intra-Articular Administration. Biopharma Drug Disp 19:395-400.**

**Christensen, S., Kashgarian, M., Alexopoulou, L., Flavell, R., Akira, S., and Schlomchik, M. 2005. Toll-like Receptor 9 Controls Anti-DNA Autoantibody Production in Murine Lupus. J Exp Med 202:321-331.**

**Cole, B. and Griffiths, M.** 1993. Triggering and Exacerbation of Autoimmune Arthritis by the *Mycoplasma arthritidis* Superantigen. *Mam. Arthritis Rheum* **36**:994-1002.

**Conde, C., Mancilla, R., Fresán M. and Ortiz-Ortiz, L.** 1983 Immunoglobulin and Complement in Tissues of Mice Infected with *Nocardia brasiliensis*. *Infect Immun* **40(3)**:1218-1222.

**Conrad, B., Weissmahr, R.N., Boni, J., Arcari, R., Schupbach, J. and Mach, B.** 1997. A Human Endogenous Retroviral Superantigen as Candidate Autoimmune Gene in Type I Diabetes. *Cell* **90**: 303-313.

**Constant, S. and Bottomly, K.** 1997. Induction of Th1 and Th2 CD4<sup>+</sup> T Cell Responses: the Alternative Approaches. Pp. 297-321.

**Coutelier, J.P., Coulie, P.G., Wauters, P., Heremans, H. and Logt, J.T.** 1990. In Vivo Polyclonal B-lymphocyte Activation Elicited by Murine Viruses. *J. Virol.* **64**:5383-5388.

**Coutinho, A., Kazatchkine, M.D. and Avrameas S.** 1995. Natural Autoantibodies, *Curr Opin Immunol* **7**:812-818.

**Dang-Vu, A.P., Pisetsky, D.S. and Weinberg, J.B.** 1987. Functional Alterations of Macrophages In Autoimmune MRL-lpr/lpr Mice. *The Journal of Immunology.* **138**:1757-1761.

**Dauphinée, M.J and Talal, N.** 1984. Suppression of Lymphoproliferation and Auto-Immunity by Elimination of a Radiosensitive Bone Marrow Cell in Mice Bearing the lpr Gene. *Scand. J. Immunol.* **19**:323-328.

**Davis, L.S., Cush, J.J., Schulze-Koops, H. and Lipsky, P.E.** 2000. Rheumatoid Synovial CD4<sup>+</sup> T Cells Exhibit a Reduced Capacity to Differentiate into IL-4- Producing T-Helper-2 Effector Cells. *Arthritis Res.* **3**:54-64.

**Del Prete, G.** 1998. The Concept of Type-1 and Type-2 Helper T Cells and their Cytokines in Humans. *Int Re Immunol.* **16(3-4)**: 427-455.

**Doetze A, Satoguina J, Burchard G, et al. 2000. Antigen-Specific Cellular Hyporesponsiveness in a Chronic Human Helminth Infection is Mediated by T(h)3/T(r)1-Type Cytokines IL-10 and Transforming Growth Factor-Beta but not by a T8H)1 to T(h)2 Shift. Int Immunol 12:626-630.**

**Dunne, D. and Cooke, A. 2005. A Worm's Eye View of the Immune System: Consequence for Evolution of Human Autoimmune Disease. Nature 5:420-426.**

**Ebringer,A., Cunningham,P., and Ahmadi,K. 1992. Sequence Similarity Between HLA-DR1 and DR4 Subtypes Associated with Rheumatoid Arthritis and Proteus/Serratia Membrane Haemolysis . Ann Rheum Dis 51:1254-1246.**

**Ekkens, M.J., Liu, Z., Liu, Q., Whitmire, J., Xiao, S., Foster, A., Pesce, J., VanNoy, J., Sharpe, A.H., Urban, J.F. and Gause, W.C. 2003. The Role of OX40 Ligand Interactions in the Development of the Th2 Response to the Gastrointestinal Nematode Parasite *Heligmosomoides polygyrus*<sup>1,2</sup>. The Journal of Immunology, 170:384-393.**

**Elliott, D.E., Li, J., Blum, A., Metwali, A., Qadir, K., Urban Jr, J.F. and Weinstock, J.V. 2003. Exposure to Schistosome Eggs Protects Mice from TNBS- Induced Colitis. J. Physiol Gastrointest Liver Physiol. 284:G385-G391.**

**Elliott, D.E., Setiawan, T., Metwali, A., Blum, A., Urban Jr., J.F. and Weinstock, J.V. 2004. *Heligmosomoides polygyrus* Inhibits Established Colitis in IL-10- Deficient Mice. Eur. J. Immunol. 34:2690-2698.**

**Elliott, D.E., Summers, W. and Weinstock, J.V. 2004. Helminths and The Modulation of Mucosal Inflammation. Curr Opin Gastroenterol. 21:51-58.**

**Elliot,D.E., Summers,R.W., Urban,J., Thompson,R., and Weinstock,J. 2005. *Trichuris suis* Therapy for Active Ulcerative Colitis: a Randomized Controlled Trial. Gastroenterology 128: 1117-1119.**

**Elliott, D.E., Urban Jr, J.F., Argo, C.K. and Weinstock, J.V.** 2000. Does The Failure to Acquire Helminthic Parasites Predispose to Crohn's Disease? *The FASEB Journal*. **14**: 1848-1855.

**Esfandiari, E., McInnes, I., Lindop, G., Huang, F., Field, M., Komai-Koma, M., Wei, X. and Liew, F.** 2001. A Proinflammatory Role of IL-18 in the Development of Spontaneous Autoimmune Disease<sup>1</sup>. *J Immunol* **167**:5338-5347.

**Fan, X. and Wuthrich, R.P.** 1997. Upregulation of Lymphoid and Renal Interferon – Gamma mRNA Autoimmune MRL-Fas(lpr) Mice with Lupus Nephritis. *Inflammation*. **21(1)**:105-112.

**Fan, X., Oertli, B. and Wuthrich, R.** 1997. Up-Regulation of Tubular Epithelial Interleukin-12 in Autoimmune MRL-Fas(lpr) Mice with Renal Injury. *Kidney Int* **1**:79-86.

**Faust, J., Menke, J., Kriegsmann, J., Kelley, V., Mayet, W., Galle, P. and Schwarting, A.** 2002. Correlation of Renal Tubular Epithelial Cell-Derived Interleukin-18 Up-Regulation with Disease Activity in MRL-Fas<sup>lpr</sup> Mice with Autoimmune Lupus Nephritis. *Arthritis Rheum* **46**:3083-3095.

**Feeney, A., Lawson, B., Kono, D. and Theofilopoulos, A.** 2001. Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Deficiency Decreases Autoimmune Disease in MRL-Fas<sup>lpr</sup> Mice<sup>1,2</sup>. *J Immunol* **167**:3486-3493.

**Feldmann, M., Brennan, F.M. and Maini, R.N.** 1996. Rheumatoid Arthritis. *Cell*. **85**: 307-310.

**Finch, C.E. and Crimmins, E.M.** 2004. Inflammatory Exposure and Historical Changes in Human Life-Spans. **305**:1736-1739.

**Finkelman, F. D., Holmes, H. and Katona I.M.** 1990. Lymphokine Control of in vivo immunoglobulin isotype selection. *Ann Rev Immunol* **8**:303.

**Finkelman, F., Pearce, E., Urban, J. and Sher, A. 1991. Regulation and Biological Function of Helminth - Induced Cytokine Responses. Parasitol Today 3:62-6.**

**Finkelman, F.D., Shea-Donohue, T., Morris, S.C. Gildea, Lucy, Strait, R., Madden, K.B., Schopf, L. and Urban, J.F. 2004. Interleukin-4- and Interleukin-13 – Mediated Host Protection Against Intestinal Nematode Parasites. Immunological Reviews. 201: 139-155.**

**Finkelman, F.D., Shea-Donohue, T., Goldhill, J., Sullivan, C.A., Morris, S.C., Madden, K.B., Gause, W.C. and Urban J.F. 1997. Cytokine Regulation of Host Defense Against Parasitic Gastrointestinal Nematodes: Lesson from Studies with Rodent Models. Annu. Rev. Immunol. 15:505-533.**

**Finkelman, F.D., Urban, J.F. 2001. The Other Side of the Coin: The Protective Role of the Th2 Cytokines. J Allergy Clin Immunol. 107: 772-780.**

**Finkelman, F.D., Wynn, T.A., Donaldson, D.D. and Urban J.F. Jr 1999. The Role of IL-13 in Helminth-Induced Inflammation and Protective Immunity Against Nematode Infections. Curr Opin Immunol. 11: 420-426.**

---

**Finkelman, F. 1994. Effects of IL-2 on Immune Responses and Host Protection in Mice Infected with Intestinal Nematode Parasites. J Exp Med 179: 1563-1572.**

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Firestein, G. 2005. Immunologic Mechanism in the Patogénesis of Rheumatoid Arthritis. J Clin Rheum 11:39-40.**

**Firestein, G.S., Alvaro-García, J.M. and Maki, R. 1990. Quantitative Analysis of Cytokine Gene Expression in Rheumatoid Arthritis. The Journal of Immunology. 14:3347-3353.**

**Fleming, S.D. and Tsokos, G.C. 2006. Complement, Natural Antibodies, Autoantibodies and Tissue Injuri. Autoimmunity Reviews. 5:89-92.**

**Florquin, S., Amraoui, Z., Abramowicz, D. and Goldman, M. 1994. Systemic Release and Protective Role of IL-10 in Staphylococcal Enterotoxin B-Induced Shock in Mice. J Immunol 153:2618-2623.**

**Friedman, S., Posnett, D.N., Tumang, J.R., Cole, B.C., and Crow, M.K. 1991. A potential Role for Microbial Superantigens in the Pathogenesis of Systemic Autoimmune Disease. Arthritis Rheum 34:468-480.**

**Fujinami, R. S., Oldstone, M. B. A., Wroblewska, Z., Frankel, M.E. and Koprowski, H. 1983. Molecular Mimicry in Virus Infection: Crossreaction of Measles Virus Phosphoprotein or of Herpes simplex Virus Protein with Human Intermediate Filaments. Proc Natl Acad Sci USA 80: 2346-2350.**

**Furuya, Y., Kawaita, T. and Nomoto, K. 2001. Immunomodulating Effect of a Traditional Japanese Medicine, Hachimi-Jio-Gan(Ba-Wei-Di-Huang-Wan), on Th1 Predominance in Autoimmune MRL/MP-lpr/lpr Mice. Int Immunol . 1:551-559.**

**Gause, W.C., Lu, P., Zhou, X.D., Chen, S.J., Madden, K.B., Morris, S.C., Linsley, P.S., Finkelman, F.D. and Urban, J.F. 1997. H. polygyrus: B7 – Independence of the Secondary Type 2 Response. Experimental Parasitology. 84: 264-273.**

**Gause, W.C., Urban Jr., J.F. and Stadecker, M.J. 2003. The Immune Response to Parasitic Helminths: Insights from Murine Models. Trends in Immunology. 24(5):269-277.**

**Gause, W.C., Urban, J.F., Linsley, P. and Lu, P. 1995. Role of B7 Signaling in the Differentiation of Naïve CD4+ T Cells to Effector Interleukin-4- Producing T Helper Cells. Immunol Res. 14:176-188.**

**Gehring, S., Schlaak, M. and Van der Bosch, J. 1998. A New in Vitro Model for Studying Human T Cell Differentiation: Th1/Th2 Induction Following Activation by Superantigens. J Immunol Meth 219:85-98.**

**Gerard, C., Bruñís, C., Marchant, A., Abramowicz, D., Vandenaabeele, P., Delvaux, A., Fiers, W., Goldman, M. and Velu, T. 1993. Interleukin-10 Reduces the Release of Tumor Necrosis Factor and Prevents Lethality in Experimental Endotoxemia. J Exo Med 177:547-550.**

**Gibbon, C., Smith, T., Egger, P., Betts, P. and Phillips, D. 1997. Early Infection and Subsequent Insulin Dependent Diabetes. Archives of Disease in Childhood. 77:384-385.**

**Goldenberg, D.L. 1983. " Postinfections" Arthritis: New Look at an Old Concep with Particular Attention to Disseminated Gonococcal Infection. AmJ Med 74:925-928.**

**Goldstein, R., Karsh, J. 1986 In vitro Synthesis of IgM Rheumatoid Factor in Response to *Staphylococcus aureus*, by Lymphocytes from Healthy Adults Arthritis Rheum. 29(12): 1440-1445.**

**Gong, J.H., Ratkay, L.G., Waterfield, J.D. and Clark-Lewis, I. 1997. An Antagonist of Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) Inhibits Arthritis in the MRL-lpr Mouse Model. J. Exp. Med.186:131-137.**

**Goodridge, H., Marshall, F., Wilson, E., Houston, K., Liew, F., Harnett, M. and Harnett, W. 2004. In vivo Exposure of Murine Dendritic Cell and macrophage Bone Marrow Progenitors to the Phosphorylcholine-Containing Filarial Nematode Glycoprotein ES-62 Polarizes their Differentiation to an Anti-Inflammatory Phenotype. Immunology 113:491-498.**

**Goverman, J., Woods, A., Larson, L., Weiner, L.P., Hood, L. and Zaller, D.M. 1993. Transgenic Mice that Express a Myelin Basic Protein-Specific T Cell Receptor Develop Spontaneous Autoimmunity . Cell 72: 551-560.**

**Granfors, K. 1992. Do Bacterial Antigens Cause Reactive Arthritis . Rheum Dis Clin North Am 18:37-48**

**Grencis, R.K.** 2001. Cytokine Regulation of Resistance and Susceptibility to Intestinal Nematode Infection- from Host to Parasite. *Vet. Parasitol.* **100(1-2):45-50.**

**Gu, L., Weinreb, A., Wang, X.P., Zack, D.J., Qiao, J.H., Weisbart, R. and Lulis, A.J.** 1998. Genetic Determinants of Autoimmune Disease and Coronary Vasculitis in the MRL-lpr/lpr Mouse Model of Systemic Lupus Erythematosus. *The Journal of Immunology.* **161:6999-7006.**

**Guillén, C., McInnes, I., Vaughan, D., Kommajosyula, S., Van Berkel, P., Leung, B., Aguila, A. and Brock, J.** 2002. Enhanced Th1 Response to *Staphylococcus aureus* Infection in Human Lactoferrin – Transgenic Mice<sup>1</sup>. *J Immunol* **168:3950-3957.**

**Guthertz, L., Lim, S., Jang, Y., and Duffey, P.** 1993. Curvilinear-Gradient High-Performance Liquid Chromatography for Identification of Mycobacteria. *J Clin Microbiol* **31: 1876-1881.**

**Haas, C., Ryffel, B. and Le Hir, M.** 1997. IFN- $\gamma$  is Essential for the Development of Autoimmune Glomerulonephritis in MRL /lpr Mice<sup>1</sup>. *J Immunol* **158:5484-5491.**

**Hackshaw, K.V., Jackson, N.A. and Shi, Y.** 1994. Composition of Peritoneal Macrophage Membranes in Autoimmune MRL LPR/LPR Mice. *Life Sciences.* **55(10): 767-773.**

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Hammer, R.E., Maika, S.D., Richardson, J.A., Tang, J-P. and Taurog, J.D.** 1990. Spontaneous Inflammatory Disease in Rats Expressing HLA-B27 and Human  $\beta$ 2- m: an Animal Model of HLA-B27-Associated Human Disorders. *Cell* **63:1099-1112.**

**Hang, L., Theofilopoulos, A.N. and Dixon, F.J.** 1982. A Spontaneous Rheumatoid Arthritis-Like Disease in MRL/l Mice. *J. Exp. Med.* **155:1690-1701.**

**Hanyecz, A., Berlo, S.E., Szántó, S., Broeren, C.P.M., Mikecz, K. and Glant, T.T.** 2004. Achievement of a Synergistic Adjuvant Effect on Arthritis Induction by Activation of Innate Immunity and Forcing the Immune Response Toward the Th1 Phenotype. *Arthritis & Rheumatism.* **50(5): 1665-1676.**

**Harnett, W., Harnett, M.M., Leung, B.P., Gracie, J.A and McInnes, I.B.** 2004. The Anti-inflammatory Potential of The Filarial Nematode Secreted Product, ES-62. *Curr Top Med Chem.* **4(5):** 553-559.

**Harnett, W., McInnes, I.B. and Harnett, M.M.** 2004. ES-62, A Filarial Nematode-Derived Immunomodulator With Anti-inflammatory Potential. *Immunol Lett.* **15;94(1-2):**27-33.

**Harraghy, N., Hussain, M., Haggar, A., Chavakis, T., Sinha, B- Herrmann, M. and Flock, J.** 2003. The Adhesive and Immunomodulating Properties of the Multifunctional *Stapylococcus aureus* Protein Eap. *Microbiology* **149:**2701-2702.

**Hawke, C., Painter, D., Kirwan, P., Van Driel, R. and Baxter, A.** 2003. Mycobacteria, an Environmental Enhancer of Lupus Nephritis in a Mouse Model of systemic Lupus Erythematosus. *Immunology* **108:**70-78.

**Hitohata, S., Inoue, T. and Ito, T.** 1992. development of Rheumatoid Arthritis After Chronic Hepatitis Caused by Hepatitis C Virus Infection. *Intern Med* **31:**493-495.

---

**Hochberg, M.** 2003. *Rheumatology* Mosby.

**Holland, M., Harcus, Y., Balic, A. and Maizels, R.** 2005. Th2 Induction by *Nippostrongylus* Secreted Antigens in Mice Deficient in B Cells, Eosinophils or MHC Class I-related Receptors. *Imm Lett* **96:**93-101.

**Holland, M., Harcus, Y., Riches, P. and Maizels, R.** 2000. Proteins Secreted by the Parasitic Nematode *Nippostrongylus brasiliensis* Act as Adjuvants for Th2 Responses. *Eur J Immunol* **30:**1977-1987.

**Hom J, Bendele AM, Carlson DG.** 1998. In Vivo Administration with IL-1 Accelerates the Development of Collagen-Induced Arthritis in Mice. *J Immunol* **141:**834.

**Howard, M., Muchamuel, T., Andrade, S. and Menon, S.** 1993. Interleukin-10 Protects Mice from Letal Endotoxemia. *J Exp Med* **177**:1205-1208.

**Hron, J.D. and Peng, S.L.** 2004. Type I IFN Protects Against Murine Lupus. *J Immunol* **173**:2134-2142.

**Hultgren, O., Kopf, M. and Tarkowski, A.** 1998. *Staphylococcus aureus*- Induced Septic Arthritis and Septic Death is Decreased in IL-4- Deficient-Mice: Role of IL-4 as Promoter for Bacterial Growth. *J Immunol* **160**:5082-5087.

**Hultgren, O., Kopf, M. and Tarkowski, A.** 1999. Outcome of *Staphylococcus aureus*- Triggered Sepsis and Arthritis in IL-4-Deficient Mice Depends on the Genetic Background of the Host. *Eur J Immunol* **29**:2400-2405.

**Hunter, M. and McKay, D.** 2004. Review Article: Helminths as Therapeutic Agents for Inflammatory Bowel Disease. *Aliment Pharmacol Ther* **19**:167-177.

**Hunziker, L. et al.** 2003. Hypergammaglobulinemia and Autoantibody Induction Mechanisms In Viral Infections. *Nat. Immunol.* **4**:343-349.

**Ishikawa, N., Goyal, P.K., Mahida, Y.R., Li, K.F. and Wakelin, D.** 1998. Early Cytokine Responses During Intestinal Parasitic Infections. *Immunology.* **93**(2): 257-263. ®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Ito, T., Seo, N., Yagi, H., Ohtani, T., Tokura, Y., Takigawa, M. and Furukawa, F.** 2002. Unique Therapeutic Effects of the Japanese-Chinese Herbal Medicine, Sarei-to, on Th1-Th2 Cytokines Balance of the Autoimmunity of MRL /lpr Mice. *J. Dermatol* **28**:198-210.

**Iwakura, Y. and Nakane, A.** 2000. Interleukin-4 and Interleukin-10 are Involved in Host Resistanse to *Staphylococcus aureus* Infection through Regulation of Gamma Interferon. *Infect Immun* **68**:2424-2430.

**Jarret, M.P., Moses, S., Barland, P. and Miller, M.H.** 1980. Articular Complications of Meningococcal Meningitis: An Immune Complex Disorder. *Arch Intern Med* **140**: 1665-1666.

**Jarret, E. and Miller, H.** 1982. Production and activities of IgE in helminth infection. *Prog. Allergy*. **31**:178.

**Johnson, H., Torres, B. and Soos, J.** 1996. Superantigens: Structure and Relevance to Human Disease. *Proc Soc Exp Biol. Med* **2**:99-109.

**Joosten, L., Lubberts, E., Durez, P., Helsen, M., Jacobs, M., Goldman, M. and Van der Berg, W.** 1997. Role of Interleukin-4 and Interleukin-10 in Murine Collagen-Induced Arthritis. *Arthritis Rheum* **40**:249-260.

**Kaibara, N., Hotokebuchi, T., Takagishi, K., Katsuki, I., Morinaga, M., Arita, C. and Jingushi, S.** 1984. Pathogenic Difference Between Collagen Arthritis and Adjuvant Arthritis. *J Exp Med* **159**:1388-1396.

**Kamata, I., Yamada, M., Uchikawa, R., Matsuda, S. and Arizono, N.** 1995. Cysteine Protease of the Nematode *Nippostrongylus brasiliensis* Preferentially Evokes an IgE/IgG1 Antibody Response in Rats. *Clin Exp Immunol* **102**:71-77.

**Kamradt, T. and Burmester, G.** 1998. Cytokines and Arthritis: is the Th1/Th2 Paradigm Useful for Understanding Pathogenesis. *J Rheum* **25**:6-8.

**Kaplan, C., Valdez, J., Chandrasekaran, R., Eibel, H., Mikecz, K., Glant, T. and Finnegan, A.** 2002. Th1 and Th2 Cytokines Regulate Proteoglycan –Specific Autoantibody Isotypes and Arthritis. *Arthritis Res* **4**:54-58.

**Katsikis, P. D., Chu, C.Q., Brennan, F.M., Maini, R.N. and Feldmann, M.** 1994. Immunoregulatory Role of Interleukin 10 in Rheumatoid arthritis. *J. Exp. Med.* **179**:1517-1527.

**Kauffman, S.H.E.** 1993. Immunity to Intracellular Bacteria. *Annu. Rev. Immunol* **11**:129-163.

**Kelley, W.N., Ruddy, S., Harris E.D., Sledge C.B.** 1997. *Textbook of Rheumatology* Saunders Company p. 95-127.

**Kench, J.A., Russell, D.M. and Nemazee, D.** 1998. Efficient Peripheral Clonal Elimination of B Lymphocytes in MRL/lpr Mice Bearing Autoantibody Transgenes. *J. Exp. Med.* **188**( 5):909-917.

**Kennedy-Stoskopf,S.** 1989. Pathogenesis of Lentivirus Induced Arthritis: A Review. *Rheumatol Int* **9**: 129-136.

**Kessler, S.** 1976. Cell Membrane Antigen Isolation with the Staphylococcal Protein A-Antibody Adsorbent. *J Immunol* **117**:1482-1490.

**Kikawada, E., Lenda, D. and Kelley, V.** 2003. IL-12 Deficiency in MRL-*Fas*<sup>pr</sup> Mice Delays Nephritis and Intrarenal IFN- $\gamma$  Expression, and Diminishes Systemic Pathology'. *J. Immunol* **170**:3915-3925.

**Kim, H.J. and Berek, C.** 2000. B Cells in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Res.* **2**(2):126-131.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Kim, L., Del Rio, L., Butcher, B., Mogensen, T., Paludan, S., Flavell, R., and Denkers, E.** 2005. P38 MAPK Autophosphorylation Drives Macrophage IL-12 Production During Intracellular Infection. *J Immunol* **174**:4178-4184.

**Kinne, R.W., Bräuer, R., Stuhlmüller, B., Palombo-Kinne, E. and Burmester, G.R.** 2000. Macrophages in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Res.* **2**: 189-202.

**Klareskog, L., Ronnelid, J. and Holm,G.** 1995. Immunopathogenesis and Immunotherapy in Rheumatoid Arthritis : an Area in Transition. *J Int Med* **238**:191-206.

**Knight, B., Katz, D.R, Isenberg, D.A., Ibrahim, M.A., Le Page, S., Hutchings, P., Schwartz, R.S. and Cooke, A. 1992. Induction of Adjuvant Arthritis in Mice. *Clin Exp Immunol* 90:459-465.**

**Kompfner, E., Oliveira, P., Montalbano, A. and Feeney, A.J. 2001. Unusual Germline DSP 2 Gene Accounts for All Apparent V-D-D-J Rearrangements in Newborn, But Not Adult, MRL Mice. *The Journal of Immunology*. 167:6933-6938.**

**Koopman, W. and Gay, S. 1988. The MRL-lpr/lpr Mouse. A Model for the Study of Rheumatoid Arthritis. *Scand J Rheumatology* 75:284-289.**

**Kourilsky, P. and Truffa-Bachi, P. 2001. Cytokine Fields and the Polarization of the Immune Response. *Trends in Immunology*. 22(9):502-509.**

**Krakauer, T. 1999. Immune Response to Staphylococcal Superantigens. *Immun Res* 2:163-173.**

**Kremer, J.M. 2005. Selective Costimulation Modulators. A Novel Approach for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Journal of Clinical Rheumatology*. 11(3):S55-S62.**

**Kroemer, G., Hirsch, F., Gózález-García, A. and Martínez-A., C.1996. Differential Involvement of Th1 and Th2 Cytokine in Autoimmune Disease. *Autoimmunity* 24:25-33.**

**Kullberg, M., Pearce, E., Hiney, S., Sher, A. and Berzofsky, J.1992. Infection with *Schistosoma mansoni* Alters Th1/Th2 Cytokine Responses to a Non-Parasite Antigen. *J Immunol* 148:3264-3270.**

**Laemmli, V.K. 1970. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of The Head of Bacteriophage T4. *Nature* 227:680-685.**

**Lamontagne. L.R., Gauldie, J., Befus, A.D., McAdam, K.P.W.J., Baltz, M.L. and Pepys, M.B. 1984. The Acute Phase Response in Parasite Infection. *Nippostrongylus brasiliensis* in the Mouse. *Immunology*. 52:733- 741.**

**Lebrun, P. and Spiegelberg, H.L.** 1987. Concomitant Immunoglobulin E and Immunoglobulin G1 Formation in *Nippostrongylus brasiliensis*- Infected Mice. *J Immunol* **139**: 1459-1465.

**Leadbetter, E., Rifkin, I., Hohlbaum, A., Beaudette, B., Shlomchik, M. and Marshak-Rothstein, A.** 2002. Chromatin-IgG Complexes Activate B Cells by Dual Engagement of IgM and Toll-Like Receptors. *Nature* **416**:603-607.

**Lee, D.M. and Weinblatt, M.E.** 2001. Rheumatoid Arthritis. *The Lancet*. **358**:903- 911.

**Lemay, S., Mao, C. and Singh, A.K.** 1996. Cytokine Gene Expression In The MRL/lpr Model of Lupus Nephritis. *50(1)*:85-93.

**Levine, J., Hartwell, D. and Beller, D.** 1991. Imbalanced Cytokine Production by Macrophages from Autoimmune-Prone Mice. *Imm Lett* **30**:183-192.

**Licón-Trillo, A., Castro-Corona M. A. and Salinas-Carmona, M. C.** 2003. Immunogenicity and Biophysical Properties of A *Nocardia brasiliensis* Protease Involved In Patogénesis of Mycetoma. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* **37**:37-44.

**Lipsky, P.E. and Davis, L.S.** 1998. The Central Involvement of T Cells in Rheumatoid Arthritis. *The Immunologist*. **6**:121-127.

**Liu, Z., Liu, Q., Hamed, H., Anthony, R., Foster, A., Finkelman, F., Urban, J.F. and Gause, W.** 2005. IL-2 and Autocrine IL-4 Drive the In Vivo Development of Antigen-Specific Th2 T Cells Elicited by Nematode Parasites. *J Immunol* **4**:2242-9.

**Liu, Z., Liu, Q., Pesce, J., Anthony, R.M., Lamb, E., Whitmire, J., Hamed, H., Morimoto, M., Urban Jr., J.F. and Gause, W.C.** 2004. Requirements for The Development of IL-4-Producing T Cells During Intestinal Nematode Infections: What it takes to Make A Th2 Cell In Vivo. *Immunological Reviews*. **201**:57-74.

**Liu, Z., Liu, Q., Pesce, J., Whitmire, J., Ekkens, M.J., Foster, A., VanNoy, J., Sharpe, A.H., Urban, J.F. and Gause, W.C. 2002. *Nippostrongylus brasiliensis* Can Induce B7-Independent Antigen-Specific Development of IL-4- Producing T Cells from Naïve CD4 T Cell In Vivo <sup>1</sup>. The Journal of Immunology. 169:6959-6968.**

**Lu, P., Zhou, X.D., Chen, S.J., Mooman, M., Morris, S.C., Finkelman, F.D., Linsley, P., Urban, J.F. and Gause, W.C. 1994. CTLA-4 Ligands Are Required to Induce an In Vivo Interleukin 4 Response to a Gastrointestinal Nematode Parasite. The Journal of Experimental Medicine. 180:693-698.**

**Lorentzen, J.C. 1999. Identification of Arthritogenic Adjuvants of Self and Foreign Origin. Scand J Immunol. 49: 45-50.**

**Locksley, R.M. 1994. Th2 Cells: help for helminths. J Exp Med 179: 1405-1407.**

**MacDonald, H.R., Lees, R.K., Baschieri, S., Herrmann, T. and Lussow, A.R. 1993. Peripheral T-cell Reactivity to Bacterial Superantigens in Vivo: The Response/Energy Paradox. Immunol Rev. 133: 105-117.**

**Madaio, M.P. and Schlomchik, M.J. 1996. Emerging Concepts Regarding B Cells and Autoantibodies in Murine Lupus Nephritis. B Cells Have Multiple Roles; All Autoantibodies Are Not Equal. J. Am. Soc. Nephrol. 7:387-396.**

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Maizels, R.M., Balic, A., Gómez-Escobar, N., Nair, M., Taylor, M.D. and Allen, J. E. 2004. Helminth Parasites - Master of Regulation. Immunological Reviews. 201:89-116.**

**Maizels, R., Bundy, D., Selkirk, M., Smith, D and Anerson, R. 1993. Immunological Modulation and Evasión by Helminth Parasites in Human Populations. Nature. 365: 797-805.**

**Maldonado, M.A., Kakkanaiyah, V., MacDonald, G.C., Chen, F., Reap, E.A., Balish, E., Farkas, W.R., Jennette, J.C., Madaio, M.P., Kotzin, B.L., Cohen, P.L. and Eisenberg, R.A. 1999. The Role of Environmental Antigens in the Spontaneous Development of Autoimmunity in MRL-*lpr* Mice. J Immunol 162: 6322-6330.**

**Mangge, H., Felsner, P., Herrmann, J., El-Shabrawi, Y., Liebmann, P. and Schauenstein, K. 1999. Early Rheumatoid Arthritis is Associated with Diminished Numbers of TH1 Cells in Stimulated Peripheral Blood. Immunobiology. 200:290-294.**

**Mansfield, L., Gause, W., Finkelman, F. and Urban, J. 2000. Gastrointestinal Nematodes and the Immune System. Effects of Microbes on the Immune System 555-567.**

**Marnell, L., Mold, C. and Du-Closs, T.W. 2005. C-Reactive Protein: Ligands, Receptors and Role in Inflammation. Clinical Immunology. 117:104-111.**

**Marshall, D., Dangerfield, J.P., Bhatia, V.K., Larbi, K.Y., Nourshargh, S. and Haskard, D.O. 2003. MRL/lpr Lupus-Prone Mice Show Exaggerated ICAM-1-Dependent Leucocyte Adhesion and Transendothelial Migration in Response to TNF- $\alpha$ . Rheumatology. 42: 929-934.**

**Marsland, B., Camberis, M. and Le Gros, G. 2005. Secretory Products from Infective forms of *Nippostrongylus brasiliensis* Induced a Rapid Allergic Airway inflammatory Response. Immunol Cell Biol. 83:40.**

**Martin, F. and Kearney, J.F. 2000. B-Cell Subsets and the Mature Preimmune Repertoire. Marginal Zone and B1 B Cells as Part of a "Natural Immune Memory". Immunological Reviews. 175:70-79.**

**Matsuda, S., Uchikawa, R., Yamada, M. and Arizono, N. 1995. Cytokine mRNA Expression Profiles in Rats Infected with the Intestinal Nematode *Nippostrongylus brasiliensis*. Infection and Immunity. 63(12): 4653-4660.**

**Mattson, L., Larsson, P., Erlandsson-Harris, H., Klareskog, L. and Harris, R. 2000. Parasite-Mediated Down-Regulation of Collagen – Induced Arthritis(CIA) in DA Rats. Clin Exp Immunol 122:477-483.**

**Mauri, C., Feldmann, M. and Williams, R.O.** 2003. Down-Regulation of Th1-Mediated Pathology in Experimental Arthritis by Stimulation of the th2 Arm of the Immune Response. *Arthritis & Rheumatism*. **48(3):839-845.**

**McGuire, T.C., O'Rourke, K.I., Erlandsson-Harris, H., Klareskog, L. and Harris, R.** 1990. Caprine Arthritis Encephalitis Lentivirus Transmission and Disease. *Curr Top Microbiol Immunol* **122:477-483.**

**McInnes, I., Leung, B., Wei, X., Bemmell, C. and Liew, F.** 1998. Septic Arthritis Following *Staphylococcus aureus* Infection in Mice Lacking Inducible Nitric Oxide Synthase. *J Immunol* **160:308-315.**

**McInnes, I.B., Gracie, A. and Liew, F.Y.** 2001. Interleukin -18: A Novel Cytokine in Inflammatory Rheumatic Disease. *Arthritis & Rheumatism*. **44(7):1481-1483.**

**McInnes, I.B., Leung, B.P., Hammett, M., Gracie, J.A., Liew, F.Y. and Hammett, W.** 2003. A Novel Therapeutic Approach Targeting Articular Inflammation Using the Filarial Nematode-Derived Phosphorylcholine-Containing Glycoprotein ES-62. *The Journal of Immunology*. **171:2127-2133.**

**McKen, M., Urban, J. and Schevach, E.** 1992. Infection Breaks T-Cell Tolerance. *Nature* **359:79.**

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Migliorini, P., Pratesi, F., Tommasi, C. and Anzilotti, C.** 2005. The Immune Response to Citrullinated Antigens in Autoimmune Diseases. *Autoimmunity Reviews* **4: 561-564.**

**Min, B., Prout, M., Hu-Li, J., Jankovic, D., Morgan, E., Urban, J., Dvorak, A., Finkelman, F., LeGros, G. and Paul, W.** 2004. Basophils Produce IL-4 and Accumulate in Tissues After Infection with a Th2-Inducing Parasite. *J Exp Med* **4:507-17.**

**Miossec, and Van der Berg.** 1998. Th1/Th2 Cytokine Balance in Arthritis. *Arthritis Rheum* **41:1896-1897.**

**Miossec, P.** 2000. Contribution of T Cell Subsets to Joint Degradation. *Arthritis Res.* **1(1):** S06.

**Miossec, P., Briolay, J., Dechanet, J., Wijdenes, J., Martínez- Valdez, H. and Banchereau, J.** 1992. Inhibition of the Production of Proinflammatory Cytokines and Immunoglobulins by Interleukin-4 in an Ex Vivo Model of Rheumatoid Synovitis. *Arthritis & Rheumatism.* **35(8):**874-883.

**Mishra, N., Reilly, C. M., Brown, D. R, Ruiz, P. and Gilkeson, G. R.** 2003. Histone deacetylase Inhibitors Modulate Renal Disease in the MRL-lpr/lpr Mouse. *J. Clin. Invest.* **111:** 539-552.

**Molinari, J. A., Ebersole, J. L. and Cypess, R. H.** 1978. Specific Antibody Levels in the Serum of *Heligmosomoides polygyrus*-Infected Mice. *J. Parasitol.* **64(2):** 233-238.

**Montenegro, S., Abath, F., Domínguez, A., Melo, W., Morais, C., Coutinho, E., Mahanty, S. and Wynn, T.** 2002. Enhanced Interleukin – 12 and CD40 Ligand Activities but Reduced *Staphylococcus aureus* Cowan 1- Induced Responses Suggest a Generalized and Progressively Impaired Type1 Cytokine Pattern for Human Schistosomiasis. *Infect Immun* **70:**5903-5912.

**Montilla, C. and Alarcón-Segovia, D.** 2000. Anetoderma in Systemic Lupus Erythematosus: Relationship to Antiphospholipid Antibodies. *Lupus* **9:**545-547.

**Moreland-L,W. And Kootman,W.J.** 1991. Infection as a Cause of arthritis. *Curr Opin Rheumatol.* **3:** 639-649.

**Mosmann, T. R., Cherwinski, H., Bond, M. W., Giedlin, M. A. and Coffman, R. L.** 1986 Two Types of Murine Helper T Cell Clone. *J Immun* **136(7):**2348.

**Mosmann, T.R. and Subash Sad.** 1996 The Expanding Universe of T-Cell Subsets: Th1, Th2 and More *Immunol Today* **17(3):**138-146.

**Murray, N. W.** 1988. IFN-gamma, the Activated Macrophage, and Host Defence Against Microbial Challenge. *Ann Intern Med* **108**:595-608.

**Nakane, A., Okamoto, M., Asano, M., Kohanawa, M. and Minagawa, T.** 1995. Endogenous Gamma Interferon, Tumor Necrosis Factor, and Interleukin-6 in *Staphylococcus aureus* infection in mice. *Infect Immun* **63**:1165-1172.

**Newman, G. R. and Hobot, J.A.** 1993. Resin Microscopy and On-Section Immunocytochemistry. Springe Laboratory. p. 3-25.

**Nicholson, L. and Kuchroo, V.** 1996. Manipulation of the Th1/Th2 Balance in Autoimmune Disease. *Curr Opin Immunol* **8**:837-842.

**Nilsson, I., Patti, J., Bremell, T., Hook, M. and Tarkowski, A.** 1998. Vaccination with a Recombinant Fragment of Collagen Adhesin Peptides Protection Against *Staphylococcus aureus* – Mediated Septic Death. *J Clin Invest* **101**:2640-2649.

**Nording, C., Karlsson-Parra, A., Jasón, L., Holdmdahl, R. and Klareskog, L.** 1992. Characterization of a Spontaneously Ocurring Arthritis in Male DBA/1 Mice. *Arthritis Rheum* **35**:717.

**Notkins, A.L. and Yoon, J.-M.** 1984. Virus-Induced Diabetes Melitus. In *Concepts in Viral Patogenesis*. Springer-Verlag. Pp 241-247.

**Nowak, U. M. and Newkirk, M. M.** 2005. Rheumatoid Factors: Good or Bad for You? *Int Arch Allergy Immunol*. **138**:180-188.

**O'Sullivan, F. X., Fassbender, H. G., Gay, S. and Koopman, W. J.** 1985. Etiopathogenesis of the Rheumatoid Arthritis-Like Disease in MRL/l Mice. The Histomorphologic Basis of Joint Destruction. *Arthritis and Rheumatism*. **28(5)**: 529-536.

**Olalla, S. M. and Fernández-Gutiérrez, B.** 2000. El Balance Th1-Th2 en Artritis Reumatoide y Lupus eritematoso Sistémico. *Seminarios de la Fundación Española de Reumatología*. **1(6)**: 360-365.

**Oldstone, M.** 1998. Molecular Mimicry and Immune-Mediated Diseases. *FASEB J* 12:1255-1265.

**Oosterwegel, M. A., Mandelbrot, D. A., Boyd, S. D., Lorsbach, R. B., Jarrett, D.Y., Abbas, A. K. and Sharpe, A. H.** 1999. The Role of CTLA-4 in Regulating Th2 Differentiation. *The Journal of Immunology*. 163:2634-2639.

**Opdenakker, G., Dillen, C., Fiten, P., Martens, E., Van-Aelst, I., Van den Oteen, P.E., Nelissen, I., Starckx, S., Descamps, F.J., Hu, J., Piccard, H., Van Damme, J., Wormald, M.R., Rudd, P.M. and Dwek, R.A.** 2006. Remnant Epitopes, Autoimmunity and Glycosylation. *Biochimica et Biophysica*. p.p.1-6.

**Ozawa, H., Tamauchi, H., Ito, M., Terashima, M., Inoue, M., Hozumi, K., Habu, S. and Watanabe, N.** 2005. Immune Responses to *Nippostrongylus brasiliensis* and Tuberculin Protein in GATA-3- Transgenic Mice. *Im Lett* 99:228-235.

**Panayi, G. S. and Corrigan, V. M.** 2006. BIP Regulates Autoimmune Inflammation and Tissue Damage. *Autoimmunity Reviews* 5: 140-142.

**Pataki, A. and Rordorf-Adam, C.** 1985. Polyarthritis in MRL/lpr Mice. *Rheumatol Int.* 5: 113-120.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Patole, P., Zecher, D., Pawar, R., Grone, H., Schlondorff, D. and Anders, H.** 2005. G-Rich DNA Suppresses Systemic Lupus. *J Am Soc Nephrol*.

**Pearlman, E., Kazura, J.W., Hazlett, F.E. and Boom, W.H.** 1993. Modulation of Murine Cytokine Responses to Mycobacterial Antigens by Helminth-Induced T Helper 2 Cell Responses. *Journal of Immunology*. 151:4857-4864.

**Pellegrini, P., Berghella, A., Contasta, I. and Adorno, D.** 2003. CD30 Antigen: not a Physiological Marker for Th2 Cells but an Important Costimulator Molecule in the Regulation of the Balance Between Th1/Th2 Response. *Trans Immunol* 12:49-61.

**Peng, S.L., Moslehi, J. and Craft, J.** 1997. Roles of Interferon  $\gamma$  and Interleukin  $\gamma$  in Murine Lupus. *J. Clin. Invest.* **99(8)**: 1936-1946.

**Perez-Rivera, L.I.** 2005. Comparación del Efecto Protector de la Respuesta Inmune Humoral Inducida por Antígenos Solubles y Particulados de *Nocardia brasiliensis*. Tesis doctoral.

**Pessler, F., Dai, L., Cron, R.Q. and Schumacher, H.R.** 2006. NFAT Transcription Factors – New Players in the Patogénesis of Inflammatory Arthropathies. *Autoimmun Rev* **5**:106-110.

**Phadke, K., Carlson, D.G., Gitter, B.D. and Butler, L.D.** 1986. Role of Interleukin 2 in Rat and Mouse Arthritis Models. *The Journal of Immunology.* **136(11)**:4085- 4091.

**Porcelli, S.** 1993. Molecular Mimicry and the Generation of Autoimmune Diseases. *Rheumatol Rev* **2**: 41-50.

**Pollard, K.M., Pearson, D.L., Hutmán, P., Hildebrandt, B. and Kono, D.H.** 1999. Lupus-Prone Mice as Models to Study Xenobiotic –Induced Acceleration of Systemic Autoimmunity. *Environmental Health Perspectives.* **107(5)**: 729-735.

**Prelog, M.** 2006. Aging of the Immune System: A Risk Factor for Autoimmunity? *Autoimmunity Reviews* **5**:136-139.

**Pritchard, D.I., Ali, N.M.H. and Behnke, J.M.** 1984. Analysis of the Mechanism of Immunodepression Following Heterologous Antigenic Stimulation During Concurrent Infection with *Nematospiroides dubius*. *Immunology.* **51**:633-642.

**Pritchard, D.I., Behnke, J.M. and Williams, D.J.L.** 1984. Primary Infection Sera and IgG1 Do not Block Host-Protective Immunity to *Nematospiroides dubius*. *Immunology.* **51**: 73-80.

**Pritchard, D.I., Maizels, R.M., Behnke, J.M. and Appleby, P.** 1984. Stage-Specific Antigens of *Nematospiroides dubius*. *Immunology.* **53(2)**: 325-335.

**Pritchard, D.I., Williams, D.J.L., Behnke, J.M. and Lee, T.D.G.** 1983. The Role of IgG1 Hypergammaglobulinaemia in Immunity to the Gastrointestinal Nematode *Nematospiroides dubius*. The Immunochemical Purification, Antigen-Specificity and In Vivo Anti-Parasite Anti-Parasite Effect of IgG1 from Immune Serum. *Immunology*. **49**: 353-365.

**Prud'Home, G., Kono, D.H. and Theofilopoulos, A.N.** 1995. Quantitative Polymerase Chain Reaction Analysis Reveals Marked Overexpression of Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-10 and Interferon- $\gamma$  mRNA in the Lymph Nodes of Lupus-Prone Mice. *Molecular Immunology*, **22(7)**:495-503.

**Qiao, J., Castellani, L., Fishbein, M. and Lulis, A.** 1993. Immune-Complex-Mediated Vasculitis Increases Coronary Artery lipid Accumulation in autoimmune-Prone MRL-Mice. *Arterioscler Thromb* **6**:932-43.

**Quiros, E. and Maroto, M.** 1996. Superantígenos: Concepto y Aplicaciones en la Patogenia y Tratamiento de Enfermedades Infecciosas y Autoinmunes. *An Med Intern* **13**:347-352.

**Rahman, M.U., Hudsin, A.P. and Schumacher, H.R.** 1992. Chlamydia and Reiter's Syndrome (Reactive Arthritis). *Rheum Dis Clin North Am* **18**:67-80.

**Rajan, B., Ramalingam, T. and Rajan, T.** 2005. Critical Role for IgM in Host Protection in Experimental Filial Infection. *J Immunol* **175**:1827-1833.

**Rath, H.C., Herfarth, H.H., Ikeda, J.S., Grenther, W.B., Hamm, T.E., Balish, E., Taurog, J.D., Hammer, R.E., Wilson, K.H. and Sartor, R.B.** 1996. Normal Luminal Bacteria, Especially *Bacteroides* Species, Mediate Chronic Colitis, Gastritis, and Arthritis in HLA-B27-Human Beta2 Microglobulin Transgenic Rats. *J Clin Invest*. **98**:945-953.

**Ratkay, L., Chowdhary, R., Iamaroon, A., Richter, A., Neyndorff, H., Keystone, E., Waterfield, J. and Levy, J.** 1998. Amelioration of Antigen-Induced Arthritis in Rabbits

by Induction of Apoptosis of Inflammatory Cells with Local Application of Transdermal Photodynamic Therapy. *Arthritis Rheum* 3:525-534.

**Ratkay, L., Chowdhary, R., Neyndorff, H., Tonzetich, J., Waterfield, J. and Levy, J.** 1994. Photodynamic Therapy; a Comparison with Other Immunomodulatory Treatments of Adjuvant-Enhanced Arthritis in MRL-lpr Mice. *Clin Exp Immunol* 3:373-377.

**Ratkay, L., Tait, B., Tonzetich, J. and Waterfield, D.** 2002. Lpr and MRL Background Gene Involvement in the Control of Adjuvant Enhanced Arthritis in MRL-lpr Mice. *J Autoimmun* 7:561-573.

**Ratkay, L., Tait, B., Tonzetich, J. and Waterfield, J.** 1994. Lpr and MRL Background Gene Involvement in the Control of Adjuvant Enhanced Arthritis in MRL-lpr Mice. *J Autoimmun* 7:561-573.

**Ratkay, L., Tonzetich, J. and Waterfield, J.D.** 1991. Antibodies to Extracellular Matrix Proteins in the Sera of MRL-lpr Mice. *Clin Immunol Immunopath* 59:236-245.

**Ratkay, L., Zhang, L., Tonzetich, J. and Waterfield, D.** 1993. Complete Freund's Adjuvant Induces an Earlier and more Severe Arthritis in MRL-lpr Mice. *J Immunol* 151:5081-5087.

**Ratkay, L.G., Tait, B., Tonzetich, J. and Waterfield J.D.** 1994. Lpr and MRL Background Gene Involvement in the Control of Adjuvant Enhanced Arthritis in MRL-lpr Mice. *J Autoimmun.* 7(5): 561-573.

**Ratkay, L.G., Tonzetich, J. and Waterfield, J. D.** 1991. Antibodies to Extracellular Matrix Proteins in the Sera of MRL-lpr Mice. *Clinical Immunology and Immunopathology.* 59: 236-245.

**Reilly, C.M and Gilkeson, G.S.** 2001. Use of Genetic Knockouts to Modulate Disease Expression in a Murine Model of Lupus, MRL/lpr Mice. 24:227-237.

**Reilly, C.M. and Gilkeson, G.S. 2002** Use of Genetic Knockouts to Modulate Disease Expression in a Murine Model of Lupus, MRL/lpr mice. *Immunol Res* 25(2): 143-153.

**Reilly, C.M., Farrelly, L.W., Viti, D., Redmond, S.T., Hutchison, F., Ruiz, P., Manning, P., Connor, J. and Gilkeson, G.S. 2002.** Modulation of Renal Disease in MRL/lpr Mice by Pharmacologic Inhibition of Inducible Nitric Oxide Synthase. *Kidney International*.61:839-846.

**Reilly, C.M., Mishra, N., Miller, J.M., Joshi, D., Ruiz, P., Richon, V.M., Marks, P.A. and Gilkeson, G.S. 2004.** Modulation of Renal Disease in MRL/lpr Mice by Suberoylanilide Hydroxamic Acid. *The Journal of Immunology*. 173:4171-4178.

**Reilly, C.M., Oates, J.C., Cook, J.A., Morrow, J.D., Halushka, P.V. and Gilkeson, G.S. 2000.** Inhibition of Mesangial Cell Nitric Oxide in MRL/lpr Mice by Prostaglandin J<sub>2</sub> and Proliferator Activation Receptor- $\gamma$  Agonist<sup>1</sup>. *The Journal of Immunology*. 164:1498-1504.

**Robinson, M. and Gustad, T.R. 1996** In Vitro Stimulation of Naive Mouse Lymphocytes by *Heligmosomoides polygyrus* Adult Worm Antigens Induces the Production of IgG1. *Parasite Immunol* 18(2): 87-93.

**Robinson, M. and Gustad, T.R. 1997.** *Heligmosomoides polygyrus* Superantigen: Differential Response with Mouse and Human Lymphocytes. *Parasitology*. 115:531-536.

**Robinson, M., Gustad, T.R., Erickson M.R. and Ferguson J.L. 1997** Non-specific Binding of IgG1 to *Heligmosomoides polygyrus*: Adult Worm Homogenate Superantigen is a Target for Immunoglobulin-induced Inhibition. *Parasite Immunol*. 19: 469-474.

**Rodríguez, W., Mold, C., Marnell, L.L., Hutt, J., Silverman, G.J., Tran, D. and Dugless, T.W. 2006.** Prevention and Reversal of Nephritis in MRL/lpr Mice with a Single Injection of C-Reactive Protein. *Arthritis & Rheumatism*. 54(1): 325-335.

**Roitt, I., Brostoff, J. and Male, D. 2001 Immunology Mosby p. 1-13**

**Romagnani, S. 1997. The Th1/Th2 paradigm. Immunol Today 18:263.**

**Romagnani, S. 1991. Human Th1 and Th2 Subsets: Doubt no More. Immun Today 12:256-257.**

**Ronaghy, A., Prakken, B., Takabatachi, K., Firstein, G., Boyle, D., Zvaifler, N., Roord, S., Albani, S., Carson, D. and Raz, E. 2002. Immunostimulatory DNA Sequences Influence the Course of Adjuvant Arthritis. J Immunol 168:51-56.**

**Rose, N.R. 2001. Infections, Mimics and Autoimmune Disease. J Clin Invest 107: 943-944.**

**Sabin, E.A., Araujo, M.I., Carvalho, E.M. and Pearce E.J. 1996. Impairment of tetanus toxoid-specific Th1-like immune responses in humans infected with *Schistosoma mansoni*. J Infect Dis 173:269-272.**

**Sacco, R.E., Hagen, M., Sandor, M., Weinstock, J.V. and Lynch, R.G. 2002. Established T<sub>H1</sub> Granulomatous Responses Induced by Active *Mycobacterium avium* Infection Switch to T<sub>H2</sub> Following Challenge with *Schistosoma mansoni*. Clinical Immunology. 104(3):274-281.**

**Sadanaga, A., Nakashima, H., Masutani, K., Miyake, K., Shimizu, S., Igawa, T., Sugiyama, N., Niuro, H., Hirakata, H. and Harada, M. 2005. Amelioration of Autoimmune Nephritis by Imatinib in MRL/lpr Mice. Arthritis & Rheumatism. 52(12): 3987-3996.**

**Sakic, B., Szechtman, H., Stead, R.H. and Denburg, J.A. 1996. Joint Pathology and Behavioral Performance in Autoimmune MRL-lpr Mice. Physiology & Behavior. 60(3): 901-905.**

**Sakinienė, E., Bremell, T. and Tarkowski, A. 1999. Complement Depletion Aggravates *Staphylococcus aureus* Septicaemia and Septic Arthritis. Clin Exp Immunol 1:95-102.**

**Salinas- Carmona, M.C. and Pérez-Rivera, I. 2004. Humoral Immunity through Immunoglobulin M Protects Mice from an Experimental Actinomycetoma Infection by *Nocardia brasiliensis*. Infection and Immunity. 72(10): 5597-5604.**

**Salinas-Carmona, M.C., Pérez-Rivera, L.I. and Torres-López E. 2003. Isolation and Purification of The Immunodominant Antigen P61 From *Nocardia brasiliensis* Culture Filtrate. J. Mycol. Med. 13:117-121.**

**Salinas-Carmona, M.C., Torres-López, E., Ramos, A.I., Licón-Trillo, A. and González-Spencer, D. 1999. Immune Response to *Nocardia brasiliensis* Antigens in an Experimental Model of Actinomycetoma in BALB/c Mice. Infection and Immunity. 67(5): 2428-2432.**

**Salinas-Carmona, M.C., Vera, L., Welsh, O. and Rodríguez, M. 1992. Antibody Response to *Nocardia brasiliensis* In Man. ZBL Bactk 276:390-397.**

---

**Salinas-Carmona, M.C., Welsh O. and Casillas, S.M. 1993. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Serological Diagnosis of *Nocardia brasiliensis* and Clinical Correlation with Mycetoma Infections. J. Clin Microbiol. 31(11). 2901-2903.**

**Salinas-Carmona, M.M. 2000. *Nocardia brasiliensis*: from a microbe to human and experimental infections. Microbes Infect 2(11):1373-81.**

**Salinas-Carmona, Pérez-Rivera L.I., Welsh, O. Rodríguez, M. and Rinaldi, M.G. 1992. Identification of Intracellular Proteases from *Nocardia brasiliensis*. J. Mycol Med 2:183-188.**

**Sandoval- Trujillo, H. 1993. "Actinomicetus", Edit. Universidad Autónoma Metropolitana. pp. 345-432.**

**Sandoval, H. 1993. Actinomicetos. México. ISBN 970-620-319-2.**

**Sangster, M.Y. et al. 2000. Analysis of the Virus-Specific and Nonspecific B Cell Response to a Persistent B-lymphotropic Gammaherpesvirus. J. Immunol. 164:1820-1828.**

**Sartono, E., Kruse, Y., Kurniawan, A., Maizels, R. And Yazdanbakhsh, M. 1996. In Th2 Biased Lymphatic Filarial Patients, Responses to PPD Remain Th1. Eur J Immunol 26: 501-504.**

**Sasaki, S., Nishikawa, S., Miura, T., Mizuki, M., Yamada, K., Madarame, H., Tagawa, Y., Savak, T., Chabaud, M., Miossec, P. and Natvig, J.B. 1999. IL-17 Is Produced by Some Proinflammatory Th1/Th0 Cells But Not by Th2 Cells. The Journal of Immunology. 162:1246-1251.**

**Savinko, T., Lauerman, A., Lehtimäki, S., Gombert, M., Majuri, M., Fyhrquist-Vanni, N., Dieu-Nosjean, M., Kemey, L., Wolf, H., Homey, B. and Alenius, H. 2005. Topical Superantigen Exposure Induces Epidermal Accumulation of CD8<sup>+</sup>T Cells Mixed Th1/Th2-Type Dermatitis and Vigorous Production of IgE Antibodies in the Murine Model of a Topic Dermatitis. J Immunol 12:8320-6.**

**Scheffold, A., Hühn, J. and Höfer, T. 2005. Regulation of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Regulatory T Cell Activity: It Takes (IL-) Two to Tango. Eur. J. Immunol. 35:1-6.**

**Schiffenbauer, J., Jonson, H., Butfiloski, E., Wegrzyn, L. and Soos, J. 1993. Staphylococcal Enterotoxins can Reactivate Experimental Allergic Encephalomyelitis. Proc Natl Acad Sci 90:8543-8546.**

**Schulze-Koops, H. and Kalden, J. 2001. The Balance of Th1 /Th2 Cytokines in Rheumatoid Arthritis. B Pra Res Cli Rheum 15:677-691.**

**Schwartz, A., Wada, T., Kinoshita, K., Tesch, G. and Kelley, V. 1998. IFN- $\gamma$  Receptor Signaling is Essential for the Initiation, Acceleration, and Destruction of Autoimmune Kidney Disease in MRL- Fas<sup>lpr</sup> Mice<sup>1</sup>. J Immunol 161:494-503.**

**Schwimmbeck, P.L., Dyrberg, T., Drachman, D.B. and Oldstone, M.B.A. 1989.** Molecular Mimicry and Myasthenia Gravis. *J. Clin. Invest.* **84**:1174-1180.

**Sela, M. 1999.** The Concept of Specific Immune Treatment Against Autoimmune Diseases. *Int. Rev. Immunol.* **18(3)**: 210-216.

**Sercarz, E. E, Lehmann, P. V., Ametani, A., Benichou, G., Miller, A. and Moudgil, K. 1993.** Dominance and Crypticity of T-Cell Antigenic Determinants. *Annu Rev Immunol* **11**:729-766.

**Shea-Donohue, T., Sullivan, C., Finkelman, F.D., Madden, K.B., Morris, S. C., Goldhill, J., Piñero-Carrero, V. and Urban, J.F. 2001.** The Role of IL-4 in *Heligmosomoides polygyrus*-Induced Alterations in Murine Intestinal Epithelial Cell Function. *The Journal of Immunology.* **167**:2234-2239.

**Shimizu, S., Nakashima, H., Karube, K., Ohshima, K. and Egashira, K. 2005.** Monocyte Chemoattractant Protein-1 Activates a Regional Th1 Immunoresponse in Nephritis of MRL/lpr Mice. *Clin Exp Rheumatol.* **23(2)**:239-242.

**Shiozawa, F., Kasama, T., Yajima, N., Odai, T., Isozaki, T., Matsunawa, M, Yoda, Y., Negishi, M., Ide, H. and Adachi, M. 2004.** Enhanced Expression of Interferon-Inducible Protein 10 Associated with Th1 Profiles of Chemokine Receptor in Autoimmune Pulmonary Inflammation of MRL/lpr Mice. *Arthritis Res Ther* **1**:78-86.

**Shoenfeld, Y. and Toubi, E. 2005.** Protective Autoantibodies: Role in Homeostasis, Clinical Importance, and Therapeutic Potential. *Arthritis and Rheumatism.* **52(9)**: 2599-2606.

**Sieper, J. and Kingsley, G. 1996.** Recent Advances in the Pathogenesis of Reactive Arthritis. *Trends Immunology Today.* **17(4)**:161-163.

**Sigal, L.H. 1999.** Molecular Biology and Immunology for Clinicians, 9 Pathogenesis of Autoimmunity-Molecular Mimicry. *Clin Rheumatol.* **5**:293-296.

**Silman, A.J., Ollier, W., Holligan, S., Birrell, F., Adebajo, A., Asuzu, M.C., Thomson, W. and Pepper, L.** 1993. Absence of Rheumatoid Arthritis in a Rural Nigerian Population. *The Journal of Rheumatology*. **20**:618-622.

**Silveira, L.H., Gutierrez, F., Scopelitis, E., Cuellar, M.L., Citera, G. And Espinoza, L.R.** 1992. Chlamydia- Induced Reactive Arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* **19**:351-362.

**Smith, J.B. and Haynes, M.K.** 2002. Rheumatoid Arthritis- A Molecular Understanding. *Ann Intern Med*. **136**:908-922.

**Smolen, J.S. and Steiner, G.** 2001. Rheumatoid Arthritis is More than Cytokines: Autoimmunity and Rheumatoid Arthritis. *Arthritis & Rheumatism*. **44(10)**:2218-2220.

**Soos, J., Schiffenbauer, J., Torres, B. and Johnson, H.** 1997. Superantigens as Virulence Factors in Autoimmunity and Immunodeficiency Diseases. *Med Hypoth* **48**:253-259.

**Soulas, P., Woods, A., Jaulhac, B., Knapp, A.M., Pasquali, J.L., Martin, T. and Korganow, A.S.** 2005. Autoantigen, Innate Immunity, and T Cells Cooperate to Break B Cell Tolerance During Bacterial Infection. *The Journal of Clinical Investigation*. **115(8)**: 2257-2267.

**Spargo, B., Crowe, L., Ionedo, T., Beaman, B. and Crowe, J.** 1991. Cord Factor ( $\alpha, \alpha$ -Trehalose 6,6'-Dimycolate) Inhibits Fusion Between Phospholipid Vesicles. *Proc Nat Acad Sci* **88**:737-740.

**Stadnyk, A.W., McElroy, J.G. and Befus, A.D.** Characterization of *Nippostrongylus brasiliensis* Infection in Different Strains of Mice. *J. Parasitol*. **76(3)**: 377-382.

**Sthol, W., Xu, D., Zang, S., Kim, K., Li, L., Hanson, J., Stohlman, S., David, C. and Jacob, C.** 2001. In Vivo Staphylococcal Superantigen-Driven Polyclonal IG Responses

in Mice: Dependence Upon CD4(+) Cells and Human MHC Class II. *Int Immunol* **10**: 1291-300.

**Street, N., Schumacher, J., Fong, T., Bass, H., Fiorentino, D., Leverah, J. and Mosmann, T.** 1990. Heterogeneity of Mouse Helper T Cells . evidence from Bulk Cultures and Limiting Dilution Cloning for Precursors of Th1 and Th2 Cells. *J Immunol* **144**: 1629-1639.

**Stuyt, R., Netea, M., Kim, S., Novick, D., Rubinstein, M., Kullberg, B., Van der Meer, J. and Dinarello, C.** 2001. Differential Roles of Interleukin-18 (IL-18) and IL-12 for Induction of Gamma Interferon by Staphylococcal Cell Wall Components and Superantigens. *Infect Immun* **69**:5025-5030.

**Suda, T. and Nagata, S.** 1997. Why do Defects in the Fas-Fas Ligand System Cause Autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol* **100**(6).

**Summers, R., David, M., Elliot, M., Qadir, K., Urban, J., Thompson, R. and Weinstock, J.** 2003. *Trichuris suis* Seems to be Safe and Possibly Effective in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Am J Gast* **98**: 2034-2041.

---

**Summers, R., Elliot, D., Urban, J., Thompson, R. and Weinstock, J.** 2005. *Trichuris suis* Therapy for Active Ulcerative Colitis: a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology* **4**:825-832.

**Summers, R., Elliot, D., Urban, J., Thompson, R. and Weinstock, J.** 2004. *Trichuris suis* Therapy in Crohn's Disease. *Gut* **54**:87-90.

**Svetic, A.** 1993. A Primary Intestinal Helminthic Infection Rapidly Induces a Gut-Associated Elevation of Th2-Associated Cytokines and IL-3. *J Immunol* **150**: 3434-3441.

**Tada, Y., Nagasawa, K., Ho, A., Morito, F., Koarada, S., Ushiyama, O., Suzuki, N., Ohta, A. and Mak, T.W.** 1999. Role of the Costimulatory Molecule CD28 in the Development of Lupus in MRL7lpr Mice. *Arthritis Res.* **1**:3153-3159.

**Takahashi, S., Fossati, L., Iwamoto, M., Merino, R., Motta, R., Kobayakawa, T. and Izui, S.** 1996. Imbalance Towards Th1 Predominance is Associated with Acceleration of Lupus-Like Autoimmune Syndrome in MRL Mice. *J. Clin. Invest.* **97(7)**: 1597-1604.

**Takahashi, T., Yagi, T., Kakinuma, S., Kurokawa, A., Okada, T., Takatsu, K., Aizawa, S. and Katagiri, T.** 1997. Suppression of Autoimmune Disease and of Massive Lymphadenopathy in MRL/Mp-lpr/lpr Mice Lacking Tyrosine Kinase Fyn (p59<sup>l<sup>y</sup></sup>) *The Journal of Immunology.* **159**:2532-2541.

**Takemura, S., Klimiuk, P.A., Braun, A. J. Goronzy, J.J. and Weyand, C.M.** 2001. T Cell Activation in Rheumatoid Synovium is B Cell Dependent. *The Journal of Immunology.* **167**:4710-4718.

**Tanaka, M., Fujii, K., Tsuji, M. and Sawai, T.** 2004. Autoimmune reaction to type II Collagen and Cartilage Degeneration in MRL/Mp – lpr/lpr Mouse. *Rheumatol. Int.* **24**: 84-92.

**Tanaka, A., O'Sullivan, F., Koopman, W., and Gay, S.** 1987. Etiopathogenesis of Rheumatoid Arthritis-Like Disease in MRL/1 Mice: II. Ultrastructural Basis of Joint Destruction. *J Rheumatol* **15**:10-16.

**Tang, B., Matsuda, T., Akira, S., Nagata, N., Ikehara, S., Hirano, T. and Kishimoto, T.** 1991. Age-Associated Increase in Interleukin 6 in MRL/lpr Mice. *Inter. Immunol* **3**:273-278.

**Tar, L., Carafa, C. And Levinson, A.I.** 1985. Staphylococcus aureus Cowan I is a Potent Stimulus of IgM Rheumatoid Factor Production ( abstract). *Arthritis Rheum ( Suppl)* **28**:S32.

**Tarkowski, A., Jhonson, R., Holmdahl, R. And Klareskog, L.** 1987. Immunohistochemical Characterization of Synovial Cell in Arthritis MRL-lpr/lpr Mice. *Arthritis Rheum* **30**:75-82.

**Tarner, I.H., Neumann, E., Gay, Steffen, Fathman, C.G. and Müller-Ladner, Ulf.** 2005. Developing the Concept of Adoptive Cellular Gene Therapy of Rheumatoid Arthritis. *Autoimmunity Reviews* 5:148-152.

**Taurog, J.D., Richardson, J.A., Croft, J.T., Simmons, W.A., Zhou, M., Fernandez-Sueiro, J.L., Balish, E. and Hammer, R.E.** 1994. The Germ Free State Prevents Development of Gut and Joint Inflammatory Disease in HLA-B27 Transgenic Rats. *J Exp Med* 180: 2359-2364.

**Thompson, G.T.D., Alfa, M., Orr, K., Thompson, B.R.J. and Olson, N.** 1994. Secretory Immune in Clinical Squelae of Salmonella Infection in a Point Source Cohort. *J Rheumatol* 21:132-137.

**Torres-López, E.** 2001. La Actividad de Catalasa de *Nocardia brasiliensis* HUJEG-1 Como Factor de Virulencia En El Micetoma Experimental. Tesis Doctoral.

**Toubi, E. and Shoenfeld, Y.** 2004. Toll-like Receptors and Their Role in The Development of Autoimmune Diseases. *Autoimmunity*. 37(3):183-188.

**Trenthamm, D.** 1982. Collagen Arthritis as a Relevant Model for Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 25:911-916.

**Tsuboi, R., Yamaguchi, T., Matsuda, K. and Ogawa, H.** 1989. Extracellular Proteinase Production and the Pathogenicity of *Nocardiae*. *Arch Dermatol Res* 281:78-80.

**Tumang, J.R., Posnett, D.N., Cole, B.C., Crow, M.K. and Friedman, S.M.** 1990. Helper T Cell Dependent Human B Cell Differentiation Mediated by a Mycoplasmal Superantigen Bridge. *J Exp Med*. 171: 2153-2158.

**Urban Jr, J.F., Fayer, R., Sullivan, C., Goldhill, J., Shea-Donohue, T., Madden, K., Morris, S.C., Katona, I., Gause, W., Ruff, M., Mansfield, L.S and Finkelman.** 1996. Local TH1 and TH2 Responses to Parasitic Infection In The Intestine: Regulation by IFN-gamma and IL-4. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 54: 337-344.

**Urban Jr, J.F., Madden, K.B., Svetic, A., Cheever, A., Trotta, P.P., Gause, W.C., Katona, I.M. and Finkelman, F.D.** 1992. The Importance of Th2 Cytokines In Protective Immunity to Nematodes. *Immunological Reviews*. **127**: 205-220.

**Urban Jr, J.F., Noben-Trauth, N., Donaldson, D.D., Madden, K.B., Morris, S.C., Collins, M. and Finkelman, F.D.** 1998. IL-13, IL-4R $\alpha$ , and Stat6 Are Required for The Expulsion of The Gastrointestinal Nematode Parasite *Nippostrongylus brasiliensis*. *Immunity*. **8**:255-264.

**Urban, J.F., Katona, I.M., Paul, W.E., and Finkelman, F.D.** 1991 Interleukin 4 is Important in Protective Immunity to a Gastrointestinal Nematode Infection in Mice *Proc Natl Acad Sci* **88**: 5513-5517.

**Van den Berg, W.B.** 2005. Animal Models of Arthritis. What have we learned? *J. Rheumatol Suppl*. **72**:7-9.

**Van Vollenhoven, R.** 1998. Role of Sex Steroids in the Th1/Th2 Cytokine Balance. *Arthritis Rheum*. **10**:1897-1898.

**Vazquez, A.V.** 1998 Efecto de la Infección Bacteriana en la Evolución de la Artritis en el Ratón MRL/lpr Tesis Doctoral.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Vella, A. and Pearce, E.** 1992. CD4<sup>+</sup> Th2 Response Induced by *Schistosoma mansoni* Eggs Develops Rapidly, through an Early, Transient, Th0-Like Stage<sup>1</sup>. *J Immunol* **148**:2283-2290.

**Vera-Cabrera, L., Johnson, W.M., Welsh, O., Reséndiz-Uresti, F. and Salinas-Carmona, M.C.** 1999. Distribution of a *Nocardia brasiliensis* Catalase Gene Fragment in Members of the Genera *Nocardia*, *Gordona*, and *Rhodococcus*. *Journal of Clinical Microbiology*. **37(6)**: 1971-1976.

**Vera-Cabrera, L., Salinas- Carmona, M.C., Welsh, O. and Rodríguez, M.A.** 1992. Isolation and Purification Two Immunodominant Antigens from *Nocardia brasiliensis*. *Journal of Clinical Microbiology*. **30(5)**: 1183-1188.

**Vera-Cabrera, L., Salinas-Carmona, M.C. and Welsh, O.** 1992. Isolation and Purification of Two Immunodominant Antigens From *Nocardia brasiliensis* *J. Clin. Microbiol* **30(5)**:1183-1188.

**Verdrengh, M., and Tarkowski, A.** 2000 Role of Macrophages in *Staphylococcus aureus*-induced arthritis and sepsis. *Arthritis Rheum* **43**:2276.

**Viau, M. and Zouali, M.** 2005. B-Lymphocytes, Innate Immunity, and Autoimmunity. *Clinical Immunology*. **114**: 17-26.

**Vinuesa, C. and Goodnow, C.** 2002. Immunology: DNA Drives Autoimmunity. *Nature* **416**:595-598.

**Vogelweid, C.M., Wright, D.C., Johnson, J.C., Hewett, J.E. and Walker, S.E.** 1994. Evaluation of Memory Learning Ability, and Clinical Neurologic Function in Pathogen-Free Mice with Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis and Rheumatism*. **37(6)**:889-897.

**Wands, J.R., Mann, E., Alpert, E. and Isselbacher, K.J.** 1975. The Pathogenesis of Arthritis Associated with Acute Hepatitis-B Surface Antigen-Positive Hepatitis: Complement Activation and Characterization of Circulating Immune Complexes. *J Clin Invest* **55**:930-936.

**Wahid, F.N. and Behnke.** 1993. Immunological Relationships During Primary Infection with *Heligmosomoides polygyrus* (*Nematospiroides dubius*): Parasite Specific IgG1 Antibody Responses and Primary Response Phenotype. *Parasite Immunology*. **15**:401-413.

**Wahid, F.N., Behnke J.M., Grecis, R.K., Else, K.J. and Ben-Smith, A. 1993.** Immunological Relationships During primary Infection with *Heligmosomoides polygyrus*: Th2 Cytokines and Primary Response Phenotype. *Parasitology* **108**: 461-471.

**Wallace, R., Brown, B., Blacklock, Z., Ulrich, R., Jost, K., Brown, J., McNeil, M., Onyi, G., Steingrube, V. and Gibson, J. 1995.** New *Nocardia* Taxon among Isolates of *Nocardia brasiliensis* Associated with Invasive Disease. *J Clin Microbiol* **33**:1528-1533.

**Wang, S., Fan, Y., Brunham, R. and Yang, X.1999.** IFN\_Gamma Knockout Mice Show Th2-Associated Delayed-Type Hypersensitivity and the Inflammatory Cells Fail to Localize and Control Chlamydial Infection. *Eur immunol* **11**:3782-92.

**Warren, K. 1974.** Helminthic Diseases Endemic in the United States. *Am J Trop Med Hyg* **23**:723.

**Watanabe, H., Garnier, G., Circolo, A., Westel, R., Ruiz, P., Holers, V., Boackle, S., Cotlen, H. and Gilkeson, G. 2000.** Modulation of Renal Disease in MRL/lpr Mice Genetically Deficient in the Alternative Complement Pathway Factor B'. *J Immunol* **164**:786-794.

**Watson, M.L., Rao, J.K., Gilkeson, G.S., Ruiz, P., Eicher, E.M., Pisetsky, D.S., Matsuzawa, A., Rochelle, J.M. and Seldin, M.F. 1992.** Genetic Analysis of MRL-lpr Mice: Relationships of the Fas Apoptosis Gene to Disease Manifestation and Renal Disease – Modifying Loci. *The Journal of Experimental Medicine*. **176**: 1645-1656.

**Weinstock, J., Summers, R. and Elliott, D. 2005.** Helminths and Harmony.

**Weinstock, J., Summers, R., Elliot, D., Qadir, K., Urban, J. and Thompson, R. 2002.** The Possible Link Between De-Worming and the Emergence of Immunological Disease. *J Lab Clin Med* **139**:334-338.

**Weintraub, J.P., Godfrey, V., Wolthusen, P.A., Cheek, R.L., Eisenberg, R.A. and Cohen, P.L. 1998** Immunological and Pathological Consequences of Mutation in Both Fas and Fas Ligand. *Cell Immunol* **186**(1): 8-17.

**Weyand, C.M.** 2000. New Insights into the Pathogenesis of Rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. **39(1):3-8**.

**Weyand, C.M. and Goronzy, J.J.** 2002. Rheumatoid Arthritis. Autoimmunity as a Consequence of Premature Aging. *Karger Gazette*. **65**.pp.1-9.

**Wilder,R.L. and Crofford-L, J.** 1991. Do Infectious Agents Cause Rheumatoid Arthritis?. *Clin Orthop* **265:36-41**.

**William, J., Euler, C., Leadbetter, E., Marshak-Rothstein, A. and Shlomchik, M.J.** 2005. Visualizing the Onset and Evolution of an Autoantibody Response in Systemic Autoimmunity. *The Journal of Immunology*. **174: 6872-6878**.

**Wu, X. and Peng, S.** 2006. Toll-Like Receptor 9 Signaling Protects Against Murine Lupus. *Arthritis Rheum* **54:336-342**.

**Xiulong, X., Blinder, L., Shen, J., Gong, H., Finnegan, A., Williams, J.W. and Chong, A.S.F.** 1997. In Vivo Mechanism by Leflunomide Controls Lymphoproliferative and Autoimmune Disease in MRL/MpJ-lpr/lpr Mice *J Immunol* **159: 167-174**.

**Xu, X., Blinder, L., Shen, J., Gong, H., Finnegan, A., Williams, J.W. and Chong, S.F.** 1997. In Vivo Mechanism by Which Leflunomide Controls Lymphoproliferative and Autoimmune Disease in MRL/Mpj- lpr/lpr Mice. *The Journal of Immunology*. **159:167-174**.

**Yang, L. et al.** 1992. Evidence for B- lymphocyte Mitogen Activity in *Borrelia burgdorferi*- Infected Mice. *Infect. Immun.* **60:3033-3041**.

**Yazdanbakhsh, M., Kreamsner, P. and Van Ree, R.** 2002. Allergy, Parasites, and the Hygiene Hypothesis. *Sci* **296:490-494**.

**Yin, Z., Bahtiyar, G., Zhang, N., Liu, L., Zhu, P., Robert, M.E., McNiff, J., Madaio, M.P. and Craft, J. 2002. IL-10 Regulates Murine Lupus. The Journal of Immunology. 169:2148-2155.**

**Yoon, J.-M, Austin, M., Ondera, T. and Notkins, A.L. 1989. Virus- Induced Diabetes Mellitus : Isolation of a Virus from the Pancreas of a Child with Diabetic Ketoacidosis. N Engl J Med. 300:1173-1179.**

**Yoshino, S., Sasatomi, E. and Ohsawa, M. 2000 Bacterial Lipopolysaccharide Acts as an Adjuvant to Induce Autoimmune Arthritis in Mice. Immunology. 99(4): 607-614.**

**Zaho, A., McDermott, J., Urban, J., Gause, W., Madden, K., Yeung, K., Morris, S., Finkelman, F. and Shea-Donohue, T. 2003. Dependence of IL-4, IL-3, and Nematode – Induced Alterations in Murine Small Intestinal Smooth Muscle Contractility on Stat6 and Enteric Nerves. J Immunol 171:948-954.**

**Zaller, D.M. and Sloan, V.S. 1996. Transgenic Mouse Models of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis . Curr Top Microbiol Immunol 206: 15-28.**

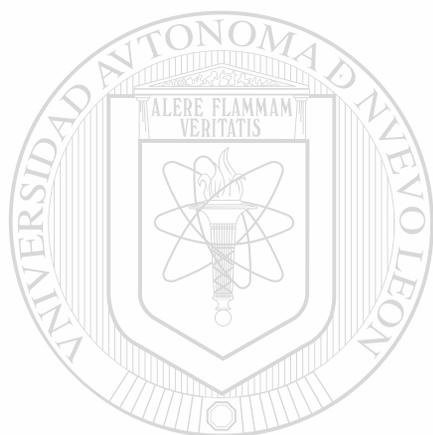
**Zare, F., Bokarewa, M., Nenonen, N., Bergstrom, T., Alexopoulou, L., Flavell, R. and Tarkowski, A. 2004. Arthritogenic properties of Double-Stranded(Viral)RNA<sup>1</sup>. J Immunol 172:5656-5663.**

**Zhou, T., Bluethmann, H., Zhang, J., Edwards, C. and Mountz, J. 1992. Defective Maintenance of T Cell Tolerance to a Superantigen in MRL-lpr/lpr Mice. J Exp Med 176: 1063-1072.**

**Zhou, T., Bluethmann, H., Zhang, J., Edwards, C.K. and Mountz, J.D. 1992. Defective Maintenance of T Cell Tolerance to a Superantigen in MRL-lpr/lpr Mice. J.Exp.Med. 176:1063-1072.**

**Zlotik, H., Schramm, V. and Buckley, H. 1983. Purification and Partial Characterization of a *Nocardia brasiliensis* Extracellular Protease. J Bacteriol 157:627-631.**

**Zúñiga, J.M. 2004. Efecto de Mediadores Inmunológicos en la Producción de Citocinas por Macrófagos Infectados con *Nocardia brasiliensis*. Tesis Doctoral.**



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

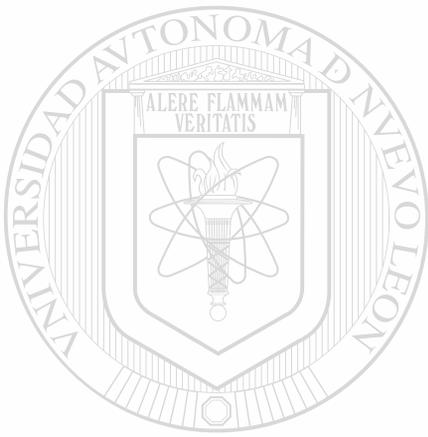


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## LISTA DE ABREVIATURAS

Ac	Anticuerpo
ACF	Adyuvante Completo de Freund
AcMc	Anticuerpos monoclonales
Ag	Antígeno
AIC	Artritis inducida por colágena
AR	Artritis reumatoide
BHI	Infusión cerebro corazón
% C	Porcentaje total de acrilamida-bisacrilamida en el gel
Cd	Células dendríticas
CMH	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
CPA	Células presentadoras de Ag
ECC	Extracto celular crudo de <i>Nocardia brasiliensis</i>
FR	Factor reumatoide
H	Horas
H y E	Hematoxilina-Eosina
HES	Antígeno de excreción y secreción de <i>Heligmosomoides polygyrus</i>
HLA-B27	Antígeno de histocompatibilidad B27
IFN- $\gamma$	Interferón gamma
IL-4	Interleucina 4
LB	Linfocitos B
LES	Lupus Eritematoso Sistémico
LT	Linfocitos T
LPS	Lipopolisacárido
M $\emptyset$	Macrófago
NES	Antígeno de excreción y secreción de <i>Nippostrongylus brasiliensis</i>
PAMP	Patrones moleculares asociados a patógenos
PMN	Polimorfonucleares
SDS-PAGE	Gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio
% T	Porcentaje total de bisacrilamida en el total de acrilamida
T CD4+	Linfocitos T CD4+
TCR	Receptor de la célula T
TLR's	Receptores tipo Toll

<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>Factor de necrosis tumoral alfa</b>
<b>Treg</b>	<b>Linfocitos T reguladores</b>
<b>UFC</b>	<b>Unidades formadoras de colonias</b>



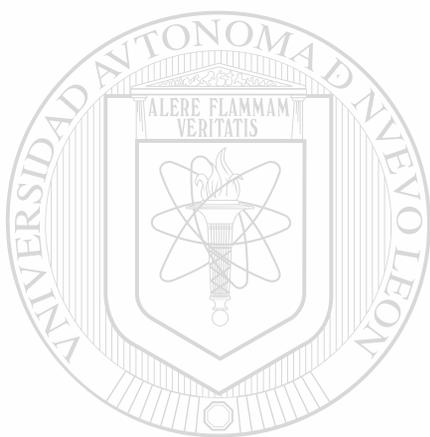
# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



