

CARTAS AL COMITE DE REDACCION

MEDICINA (Buenos Aires) 2001; 61: 903-907

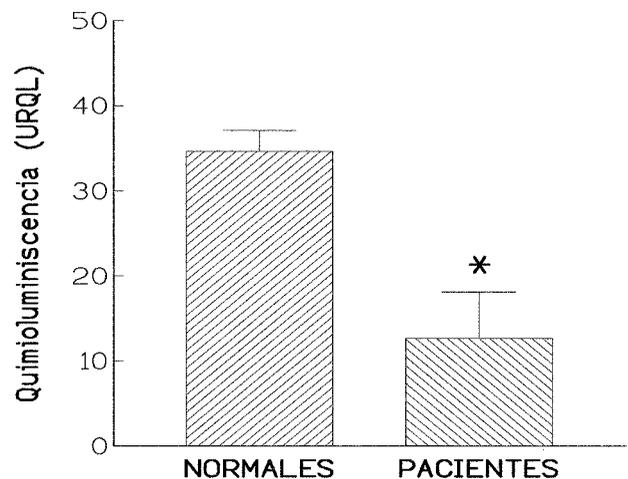
Baja quimioluminiscencia de los neutrófilos en pacientes con paracoccidioidomicosis crónica

Pese a que la ciudad de Buenos Aires se encuentra ubicada fuera del área endémica de la paracoccidioidomicosis, pacientes portadores de la forma crónica de esta enfermedad son atendidos esporádicamente en el Hospital Muñiz y representan un desafío importante para su diagnóstico y tratamiento.

Esta micosis constituye un problema sanitario que afecta extensas regiones de nuestro país, precisamente las más pobres y menos desarrolladas. Habitualmente, los pacientes asistidos en Buenos Aires son individuos nacidos en zonas endémicas, que habitan en el momento de padecer la enfermedad, en los alrededores de esta ciudad.

La mayor parte de los estudios llevados a cabo sobre la respuesta inmune frente al *Paracoccidioides brasiliensis* han sido realizados *in vitro* con células humanas o *in vivo* en modelos animales. La mayoría de esos estudios versan sobre diferentes componentes de la respuesta inmune adaptativa, mediada por linfocitos con capacidad de reconocimiento antigénico, como un elemento crucial en la ineficiencia para montar una respuesta apropiada en los huéspedes susceptibles. En cambio, el papel de los polimorfonucleares neutrófilos ha recibido mucho menor atención.

En estudios realizados en pacientes con paracoccidioidomicosis se ha visto, a través de criterios citomorfológicos, que sus neutrófilos presentan una deficiencia en la digestión de las formas de levadura de *P. brasiliensis*¹. En base a esa observación, analizamos la capacidad de los neutrófilos de generar quimioluminiscencia tras el desafío con levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* opsonizadas con complemento, en tres pacientes varones internados en el Hospital Muñiz con paracoccidioidomicosis crónica, de 16, 54 y 74 años de edad al momento del diagnóstico. Los neutrófilos fueron separados de sangre venosa heparinizada mediante gradiente de Ficoll-Hypaque, seguido de sedimentación en dextrán² y ajustados a 5×10^6 células/ml en solución salina balanceada de Hanks sin rojo fenol. A continuación fueron estimulados con zymosán opsonizado y se registró durante 10 min. la quimioluminiscencia en un lumiagregómetro (Chrono-Log, Haverton, PA, EEUU), en presencia de luminol, tomando como valor de quimioluminiscencia el pico de emisión, expresado en unidades relativas de quimioluminiscencia (URQL). Una unidad corresponde a una deflexión de 1 cm en el registro en papel del lumiagregómetro. Como controles se utilizaron neutrófilos sin estimulación. Este método³ va-



* Significativamente menor que los controles (p=0.017)

Fig. 1.-Estallido respiratorio de neutrófilos sanguíneos de pacientes con paracoccidioidomicosis crónica (n=3) y dadores voluntarios de sangre (n=12). Los neutrófilos purificados fueron desafiados con zymosán opsonizado y se registró la quimioluminiscencia en un lumiagregómetro. La actividad de los pacientes es significativamente más baja (p=0.017, prueba de Mann-Whitney) que la de los dadores normales.

lora el estallido respiratorio de los neutrófilos, uno de los mecanismos fungicidas más importantes de estas células, efectivo contra *P. brasiliensis*⁴.

Cuando fueron desafiados con zymosán opsonizado, en comparación con sujetos normales (n=12, 9 varones, 18 a 54 años de edad), los neutrófilos de los pacientes tenían valores de estallido respiratorio significativamente menores, aproximadamente un 40% del valor de los controles (Figura). Siendo todos los valores inferiores al mínimo de los normales, el menor registro (2 URQL) correspondió al paciente más longevo. Todos alcanzaron remisión con el tratamiento antifúngico.

Estos hallazgos muestran que los neutrófilos de los pacientes, estudiados al diagnóstico, tienen una producción defectuosa de radicales derivados del oxígeno luego de gatillar su producción por la vía de las β_2 -integrinas CD11b/CD18; esto es consistente con los defectos citomorfológicos mencionados. Recientemente, Kurita *et al.*⁵⁻⁶ han demostrado que los neutrófilos tienen eficiente capacidad antifúngica contra *P. brasiliensis*, en forma regulable por citocinas como el interferón γ , y sugieren que su actividad es probablemente crítica en los estadios tempranos de la infección.

Al presente se desconoce si el defecto en el estallido respiratorio de los neutrófilos es previo a la infección o activamente inducido por el propio *P. brasiliensis*. Independientemente de que sea causa o consecuencia de

la infección, esta incapacidad puede ser importante para determinar la diseminación de la enfermedad.

Estos hallazgos refuerzan la hipótesis de que la incapacidad de los neutrófilos para controlar la infección provocada por *P. brasiliensis* puede ser un componente significativo en la paracoccidioidomicosis humana y abrir un nuevo campo para seleccionar estrategias de tratamiento.

M. Cecilia Fornari¹, M. Teresa Guereño¹,
A. Javier Bava², M. Rosario Sila³, Ricardo Negroni⁴,
Roberto A. Diez¹

¹Laboratorio de Inmunofarmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires; ²Cátedra de Micología y Parasitología, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata; ³Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina; ⁴Unidad Micología, Hospital de Infecciosas FJ Muñiz, Buenos Aires

1. Gohman-Yahr M, Essenfeld-Yahr E, de Albornoz MC, et al. Defect of *in vitro* digestive ability of polymorphonuclear leukocytes in paracoccidioidomycosis. *Infec Immun* 1980; 28: 557-66.
2. Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand. J Clin Invest* 1968; 21 (Suppl 97):77-85.
3. Geffner JR, Trevani AS, Schatner M, et al. Activation of human neutrophils and monocytes induced by immune complexes prepared with cationized antibodies or antigens. *Clin Immunol Immunopathol* 1993; 69: 9-15.
4. Meloni-Bruneri LH, Campa A, Abdalla DSP, Calich VL, Lenzi HL, Burger E. Neutrophil oxidative metabolism and killing of *P. brasiliensis* after air pouch infection of susceptible and resistant mice. *J Leuk Biol* 1996; 59: 526-33
5. Kurita N, Oarada M, Ito E, Miyaji M. Antifungal activity of human polymorphonuclear leucocytes against yeast cells of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Med Mycol* 1999; 37:261-7.
6. Kurita N, Oarada M, Miyaji M, Ito E. Effect of cytokines on antifungal activity of human polymorphonuclear leukocytes against yeast cells of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Med Mycol* 2000; 38:177-82.