

## ENFERMEDADES GRANULOMATOSAS POR AGENTES VIVOS: SE TRATA DE UN PROBLEMA DE PROCESAMIENTO.

Mauricio Goihman-Yahr (\*)

- (\*) Sección de Inmunología I, Instituto Nacional de Dermatología, Servicio de Dermatología, Hospital Vargas. Cátedra de Clínica Dermatológica, Escuela "José M. Vargas", Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.

En las enfermedades granulomatosas producidas por agentes vivos, un organismo causal induce una respuesta inflamatoria. Las células inflamatorias no representan una población estática sino que unas llegan del torrente circulatorio al sitio de presencia del parásito (entendido aquí como agente causal sin que esto precise su ubicación taxonómica), mientras que otras abandonan este sitio. Asimismo, las células se diferencian en este sitio y pueden cambiar su morfología. En general con un predominio progresivo de macrófagos y de células que de ellos se derivan (células epitelioides y gigantes). Es precisamente la presencia de células de estirpe macrofágica la que define la existencia de un granuloma como tal. Para que exista enfermedad, es en general necesario que sobreviva una población parasitaria al asalto fagocitario. No se trata de un fenómeno del todo o nada. La relación huésped-parásito es dinámica, variable y compleja. Muy probablemente los parásitos son ingeridos inicialmente por los polinucleares neutrófilos o sometidos a la acción de las enzimas de éstos bien regurgitadas o por la llamada "fagocitosis frustrada" o liberadas por destrucción celular.

La supervivencia del parásito o de sus estructuras lleva a la incorporación de él o éstas a los macrófagos. Ello puede ocurrir por fagocitosis directa del parásito o por fagocitosis de polinucleares, los cuales a su vez contienen a parásitos fagocitados. (Hemos visto interesantes imágenes de *Paracoccidioides brasiliensis* alojados en el interior de neutrófilos los cuales a su vez han sido ingeridos por macrófagos. Ello ha ocurrido en células del exudado broncoalveolar obtenidas de pacientes con *Paracoccidioidomicosis* o bien, experimentalmente, al poner en contacto células de ese exudado -obtenido por lavado broncoalveolar vía bronco fibroscópica- con ***Paracoccidioides brasiliensis*** in vitro).

Los parásitos pueden ser destruídos totalmente o no, por los macrófagos. La presencia persistente de parásitos o sus componentes es la seña fundamental de las enfermedades granulomatosas por agentes vivos. Ahora bien, la destrucción de parásitos fagocitados proporciona una fuente de antígenos. Estos, dispuestos de forma espacialmente

adecuada en la superficie de los macrófagos, son capaces de activar a linfocitos T, lo cual inicia la cadena de la respuesta inmunológica (T y B). Los linfocitos, en contacto ulterior con los parásitos o sus productos producen variadas sustancias (interleukinas) las cuales ejercen efectos sobre otros linfocitos y sobre otras estirpes celulares (incluyendo los propios fagocitos). Las células así afectadas pueden a su vez ejercer acción sobre el parásito o sobre estructuras del huésped, incluso a distancia del teatro de acontecimientos inicial. Para poder valorar este "escenario" de acción es necesario admitir que es sólo un esquema.

Ciertamente, la destrucción de los parásitos invasores se efectúa en un tiempo determinado y en una fracción determinada de la población interaccionante. No obstante, los parásitos no están necesariamente estáticos durante este proceso. Pueden reproducirse y así aumentar su número. Pueden segregar sustancias que modifiquen la acción de las células procesadoras (5). Aún fagocitados, los parásitos pueden mostrar resistencia a la digestión por diferentes mecanismos (v.g. bloqueo de la incorporación a fagolisosomas o resistencia a la acción de las enzimas de los mismos). Estos fenómenos de resistencia intracelular de los parásitos han sido estudiados sobre todo en *Leishmania* y *Toxoplasma*. Por otro lado, diferentes formas evolutivas de parásitos pueden tener diferente resistencia (o susceptibilidad) a variados tipos celulares (7).

Factores adicionales son la relación entre el número y tipo de células fagocitarias y el número y tipo de parásitos en un sitio dado, la eventual velocidad con la cual las diferentes poblaciones pueden renovarse y la accesibilidad a la interacción. La modificación de la efectividad fagocitaria por diferentes agentes extraños, como partículas, polisacáridos y otros, ha sido conocida hace tiempo (v.g. el empleo de la mucina para facilitar el éxito de las inoculaciones experimentales)...

Hasta ahora hemos supuesto un sitio único de interacción y procesamiento. En la realidad ésto no ocurre así. Pueden haber diferentes sitios de confrontación por inoculaciones múltiples en sitios diversos y/o en tiempos diversos o bien (y ésto es frecuente) porque los parásitos migren del sitio inicial a otros sitios. La migración puede ser libre a través del torrente sanguíneo o del linfático ayudada eventualmente por la capacidad motriz activa del parásito. Este último puede ir como pasajero en el interior de alguna célula (generalmente fagocitaria). En el nuevo sitio de interacción (determinado a su vez por el azar, la microanatomía capilar o linfática y la existencia de ciertos receptores en estudio) el teatro físico-químico (microambiente) puede ser diferente del original. Asimismo, la relación relativa de poblaciones celulares y la puesta en juego de mecanismos de hipersensibilidad puede diferir de la del sitio inicial. Así, focos a distancia pueden sobrevivir mientras el inicial es destruido. Por el contrario, "metástasis de parásitos" pueden ser aniquiladas mientras el foco inicial se encuentra aún en plena actividad.

El punto del procesamiento y digestión en la génesis de las enfermedades granulomatosas está ilustrado en nuestros trabajos con *P. brasiliensis* y células fagocitarias. Tanto los neutrófilos de la sangre periférica como las células fagocitarias de los lavados broncoalveolares (neutrófilos, monocitos, macrófagos) fagocitan bien al *P. brasiliensis* en su fase levaduriforme. La capacidad digestiva, y en menor grado la letal, en cambio es mucho mayor en personas normales que en enfermos con paracoccidioidomicosis. Este "déficit digestivo" es en cierta forma específico puesto que enfermos con diferentes afecciones cutáneas (v.g. psoriasis, linfomas) e incluso con enfermedades granulomatosas distintas de la paracoccidioidomicosis (v.g. lepra, leishmaniasis, sarcoidosis) digieren bien al hongo causal. El déficit digestivo es tanto mayor cuanto mayor es el compromiso del paciente y cuanto menor es su respuesta inmune celular y mayor su respuesta humoral (medida por fijación del complemento y precipitación en gel). Es tentador pensar (aunque no lo hemos demostrado), que el tipo de respuesta inmunológica es el resultado del tipo de procesamiento por los fagocitos. Nuestros resultados iniciales en macrófagos broncoalveolares indican que la digestión del propio *P. brasiliensis* que produce la enfermedad presente en los exudados, es probablemente peor que la de los hongos mantenidos in-vitro. Estos últimos se añaden a los medios de cultivo para nuestro ensayo de digestión. La persistencia del hongo causal no permite explicar el déficit digestivo frente a hongos añadidos experimentalmente in-vitro, puesto que en la sangre periférica la funguemia es excepcional en nuestros casos. En lo referente al material broncoalveolar, hemos encontrado que pacientes ya tratados y sin parásitos detectables por microscopía, conservan sin embargo su paresia digestiva frente a *Paracoccidioides* puestos en contacto con sus fagocitos.

Esto nos lleva a insistir de nuevo en factores tales como la relación entre números y tipos de células fagocitarias y números y tipos de parásitos y el tiempo de interacción entre ellos. Es muy difícil simular in-vitro la complejidad de los fenómenos vitales y de hecho, el análisis es a veces imposible a menos que procedamos a una simplificación experimental. No obstante, nosotros en estudios de digestión de *P. brasiliensis* por polinucleares de sangre periférica hemos variado las proporciones relativas celulares hongo/fagocitos (1:1, 1:5, 1:10), los tiempos de interacción (1 hora, dos horas y media) (3, 4) y las cepas de *P. brasiliensis* empleadas. Encontramos una variación interesante de resultados de acuerdo a los factores. Había una mayor velocidad de digestión de la cepa no patógena y lo mismo sucedía al elevar la proporción de fagocitos por parásito. Asimismo, si comparamos la digestión de *P. brasiliensis* por macrófagos broncoalveolares obtenidos por broncofibroscopia y lavado broncoalveolar y por polinucleares periféricos, los macrófagos -célula por célula- tienen una actividad plenamente comparable a la de los polinucleares periféricos o incluso superior. No obstante, al menos en nuestros resultados actuales, los macrófagos broncoalveolares digieren mucho peor a la *Candida albicans* que los polinucleares neutrófilos de la sangre periférica (2).

Hemos puntualizado ya que los granulomas por agentes vivos suceden cuando los parásitos o fracciones de los mismos permanecen en el interior de células fagocitarias. La capacidad de persistencia puede ser intrínseca del agente causal -y aquí es fundamental el rol de su pared celular- en estos casos la enfermedad puede ocurrir en una elevada proporción de personas infectadas y el cuadro clínico e histológico es siempre granulomatoso. Sin embargo, la capacidad destructiva de los macrófagos puede estimularse por procesos de hipersensibilidad celular en donde seguramente intervienen los linfocitos y las interleukinas. Los trabajos iniciales de Steenken (8) con el *M. tuberculosis* y los de Convit y col. con el *M. leprae* (1) son ejemplos de cómo la digestión y permanencia de micobacterias es alterada por los fenómenos de hipersensibilidad celular.

En otras ocasiones, los polinucleares digieren bien al organismo causal y la enfermedad eventual que éste produce no es granulomatosa. No obstante en ciertos individuos un déficit enzimático (precisado o no) impide la acción de los neutrófilos y un parásito "no granulomatogénico" induce, de pronto, granulomas. Tal es el caso de la enfermedad granulomatosa de la infancia donde *S. aureus*, *E. coli* y otros organismos (6) producen granulomas ya que sobreviven en el interior de las células fagocitarias. Un fenómeno similar ocurre en el caso de la enfermedad granulomatosa inducida por la *C. albicans*. Entre esos dos polos pueden existir deficiencias intermedias de digestibilidad. Estas, exageradas eventualmente por mecanismos de evasión parasitaria, permiten la aparición de enfermedad en una proporción reducida de la población. Todo depende de la magnitud del asalto. Así, una inoculación masiva de hongos (como ocurre en infecciones experimentales del laboratorio con *Histoplasma capsulatum*) puede inducir enfermedad aún cuando la capacidad digestiva de las células del enfermo esté completamente dentro de la norma.

La capacidad o incapacidad digestiva de las células fagocitarias frente a un organismo dado depende de factores sutiles. Hemos mencionado la supervivencia de Leishmanias fagocitadas pero no alteradas -como buzos con escafandra en el medio del mar- pero esta supervivencia depende de la especie de Leishmania o aún de la cepa. Así organismos muy patógenos para un animal dado son rápidamente destruidos por las células de otros. Muchas veces la susceptibilidad de especie o cepa es un criterio taxonómico. Nosotros mismos al tratar de estudiar la digestión de Leishmaniasis animales por neutrófilos humanos, hallamos que nos era difícil hacerlo por la rapidez con la cual los neutrófilos destruían in-vitro a esas leishmanias sin que ellas pudieran reconocerse por los medios de microscopía óptica usual.

Los fenómenos de procesamiento pueden ayudar a la terapia o a su vez ser ayudados por ella. La terapia antimicrobiana puede destruir directamente a los parásitos causales o bien puede dañarlos de tal modo que sean vulnerables a la acción de las células fagocitarias. El proce-

samiento por estas últimas, hecho posible por "el debilitamiento" quimioterapéutico del parásito puede ayudar también al desarrollo de una respuesta inmune favorable al huésped y un ulterior facilitamiento del procesamiento digestivo.

En suma, el conocimiento de las condiciones de la interacción intercelular y de la digestión de los parásitos permitirá conocer mejor el origen mismo de estas afecciones y el de un problema fundamental de la biología como lo es el del reconocimiento y destrucción. La activación de los procesos digestivos por mecanismos inmunológicos o no es de especial interés práctico en la terapia de aquellas afecciones donde el tratamiento medicamentoso es inexistente o no completamente satisfactorio.

## AGRADECIMIENTO

*Las investigaciones de la Sección de Inmunología I del Instituto Nacional de Dermatología están subvencionadas en parte por el CONICIT (Proyecto S11074).*

*Nuestro agradecimiento especial al General Rafael J. Quintero Torres.*

## REFERENCIAS

- 1.- Convit, J., Pínardi, M.E., Rodríguez-Ochoa, G., Ulrich, M., Avila, J.L. and Gohman-Yahr, M.: Clin. Exp. Immunoi. 17: 261, 1974.
- 2.- Gohman-Yahr, M., Rothenberg, A., Avila-Millán, E., Rosquete, R., Albornoz, M.C., Kanski, A., Pereira, J., de Gómez, M.H. de Román, A. y San Martín, B. Simposio CONICIT (en prensa).
- 3.- Gohman-Yahr, M., Essenfeld-Yahr, E., Albornoz, M.C., Yarzabal, L., de Gómez, M.H., San Martín, B., Ocanto, A., Gil, E. and Convit, J.: Inf. Immunity. 26: 557, 1980.
- 4.- Gohman-Yahr, M., Essenfeld-Yahr, E., Albornoz, M.C., Yarzabal, L., de Gómez, M.H., San Martín, B., Ocanto, A. and Convit, J.: J. Clin. Microbiol. 10: 365, 1979.
- 5.- Hernández, A.G. en Cytopathology of Parasitic Disease, Evered, E. y Collins, G.M. Editors. CIBA Foundation Symposium 99, pp. 138 y sig. Pitman 1983.
- 6.- Klebanoff, S.J. and Clark, R.A.: The Neutrophil Function and Clinical Disorders North Holland Publishing Co., Amsterdam, New York, 1978.
- 7.- Nogueira, N. en Cytopathology of Parasitic Disease. Evered, E., Collins, G.M. Editors- CIBA Foundation Symposium 99, pp. 52 y sig. Pitman 1983.
- 8.- Steenken, W., Jr. and Gardner, L. V., Am. Rev. Tuberc. 54: 62, 1946.